



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER FAKÜLTESİ  
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ  
ANA BİLİM DALI



# KİSTİK ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİ KÖPEKLERİN ENDOMETRİYUM KANSERİ MİDİR?

YEŞİM KORLU

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2023

Yeşim KORLU

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2023



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER FAKÜLTESİ  
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ  
ANABİLİM DALI



**KİSTİK ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİ KÖPEKLERİN  
ENDOMETRİYUM KANSERİ MİDİR?**

**Yeşim KORLU**

**(DOKTORA TEZİ)**

**DANIŞMAN:**

**Prof. Dr. Rabia Gözde ÖZALP**

**DDP(V)-2020/8- BUÜ Bilimsel Araştırma Proje Birimi**

**BURSA-2023**

**T.C.**  
**BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ETİK BEYANI**

Doktora tezi olarak sunduğum “**Kistik Endometriyal Hiperplazi Köpeklerin Endometriyum Kanseri midir?**” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

**Yeşim KORLU**

## TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

09/03/2023

**Adı Soyadı:** Yeşim KORLU

**Anabilim Dalı:** Veteriner/ Doğum ve Jinekoloji

**Tez Konusu:** Kistik Endometriyal Hiperplazi Köpeklerin Endometriyum Kanseri midir?

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>AÇIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

### DANIŞMAN ONAYI

**Unvanı Adı Soyadı:**  
Prof. Dr. R. Gözde ÖZALP

**İmza:**

## İÇİNDEKİLER

<b>Dış Kapak</b>	
<b>İç Kapak</b>	
<b>ETİK BEYAN.....</b>	<b>II</b>
<b>KABUL ONAY SAYFASI.....</b>	<b>III</b>
<b>TEZ KONTROL BEYAN FORMU.....</b>	<b>IV</b>
<b>İÇİNDEKİLER.....</b>	<b>V</b>
<b>TÜRKÇE ÖZET.....</b>	<b>IX</b>
<b>İNGİLİZCE ÖZET.....</b>	<b>X</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Köpeklerin Seksüel Siklusları.....	3
2.2. Köpeklerde Seksüel Siklusların Uterus Üzerindeki Etkileri.....	3
2.2.1. Östrojen Reseptörleri Yerleşimi.....	7
2.2.2. Progesteron Reseptör Yerleşimi.....	8
2.3. Köpeklerde Kistik Endometriyal Hiperplazi (CEH).....	9
2.3.1. CEH'in Tanımı.....	10
2.3.2. CEH'in Etiyopatolojisi.....	10
2.3.3. CEH'in Moleküler Etiyopatogenezisi ve Etkileyen Faktörler.....	13
2.3.3.1. Büyüme Faktörleri.....	13
2.3.3.2. Hormon Uygulamaları ve Büyüme Faktörleri.....	15
2.3.3.3. İnflamasyon Faktörleri.....	17
2.3.4. Prostaglandin Mekanizması ve Kanser.....	18
2.3.5. Kistik Endometriyal Hiperplazi ile Birlikte Seyreden Hastalıklar ve Tedavi Protokolleri .....	24
2.3.5.1. Ovaryum Kistleri.....	24
2.3.5.2. Ovaryum Tümörleri.....	27
2.3.5.3. Pyometra.....	28
2.3.6. Çalışmanın Amacı ve Hipotezleri.....	30
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>31</b>
3.1. Hastaların Seçimi ve Tedavi Protokolü.....	31
3.2. Operasyonlar.....	32
3.3. Dokuların Korunması ve Saklanması.....	32
3.4. Histopatolojik Muayeneler.....	33
3.5. Real-Time PCR Çalışması.....	34
3.5.1. mRNA İzolasyonu .....	34
3.5.1.1. Trizol ile mRNA İzolasyonu.....	34
3.5.1.2. Kit Kullanımı ile mRNA İzolasyonu (innuPREP Micro RNA Kit, Analytic Jena) .....	35
3.5.2. mRNA Kalite ve Konsantrasyonlarının Belirlenmesi.....	35
3.5.3. cDNA Sentezi.....	36
3.5.4. Real-Time PCR (qPCR) .....	37
3.5.5. Primer Dizaynı.....	38
3.6. İmmünohistokimyasal Boyamalar.....	38
3.7. Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi.....	39
3.8. Çalışmada Kullanılan Medyumların Hazırlanması.....	40
3.8.1. PBS Hazırlanması.....	40
3.8.2. Tamponlanmış Formaldehit Solüsyonunun Hazırlanması.....	40

<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>41</b>
4.1. Klinik Bulgular.....	41
4.1.1. CEH-P-1.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular.....	41
4.1.2. CEH-P-2.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular.....	41
4.1.3. CEH-P-3.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular.....	41
4.1.4. CEH-P-4.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular.....	42
4.1.5. NK-5.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular.....	42
4.1.6. CEH-6.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular.....	42
4.2. Gruplara Göre Hemogram ve Ultrasonografi Muayenesi.....	44
4.2.1. CEH-P-1.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları.....	44
4.2.2. CEH-P-2.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları.....	47
4.2.3. CEH-P-3.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları.....	51
4.2.4. CEH-P-4.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları.....	57
4.2.5. NK-5.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları.....	60
4.2.6. CEH-6.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları.....	61
4.3. CEH'nin Tanısı, Sınıflandırması ve Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları.....	62
4.4. Dokudan mRNA İzolasyonu Spektrofotometrik Bulguları.....	63
4.4.1. Trizol Yöntemi ile Elde Edilen İzolasyon Sonuçları.....	63
4.4.1.1. CEH-P-1.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	63
4.4.1.2. CEH-P-2.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	66
4.4.1.3. CEH-P-3.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	67
4.4.1.4. CEH-P-4.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	69
4.4.1.5. NK-5.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	71
4.4.1.6. CEH-6.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	73
4.4.2. Ticari Kit (InnuPrep Analytic Jena) Kullanımı ile Elde Edilen İzolasyon Sonuçları.....	75
4.4.2.1. CEH-P-1.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	75
4.4.2.2. CEH-P-2.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	77
4.4.2.3. CEH-P-3.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	79
4.4.2.4. CEH-P-4.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	81
4.4.2.5. NK-5.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	83
4.4.2.6. CEH-6.Grup Hastalara Ait Sonuçlar.....	85
4.5. İzole edilen mRNA'ların Bütünlük Kontrolü (%2'lik agaroz jel).....	87
4.5.1. CEH-P-1. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri.....	87
4.5.2. CEH-P-2. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri.....	87
4.5.3. CEH-P-3. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri.....	88
4.5.4. CEH-P-4. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri.....	89
4.5.5. NK-5. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri.....	89
4.5.6. CEH-6. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri.....	90
4.6. Immunohistokimyasal Sonuçlar.....	91
4.6.1. CEH-P-1. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar.....	102
4.6.2. CEH-P-2. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar.....	104
4.6.3. CEH-P-3. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar.....	105
4.6.4. CEH-P-4. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar.....	106
4.6.5. NK-5. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar.....	107
4.6.6. CEH-6. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar.....	108
4.7. Gen Ekspresyonları Sonuçları.....	109
4.7.1. PTGS2/COX2 Gen Ekspresyonu Sonuçları.....	109
4.7.2. PTGES Gen Ekspresyonu Sonuçları.....	111
4.7.3. PTGER2 Gen Ekspresyonu Sonuçları.....	112

4.7.4. PTGER4 Gen Ekspresyonu Sonuçları.....	114
4.7.5. PGFS Gen Ekspresyonu Sonuçları.....	116
4.7.6. PTGFR Gen Ekspresyonu Sonuçları.....	118
4.7.7. PGR Gen Ekspresyonu Sonuçları.....	120
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>123</b>
5.1. Gruplar Arası Ekspresyonel Farklılıklar.....	131
5.2. Aglepriston Tedavisinin Gruplar Arası Ekspresyonel Farklılıklar Üzerindeki Etkisi	135
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>139</b>
<b>7. SİMGELER VE KISALTMALAR.....</b>	<b>157</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>160</b>
<b>9. TEŞEKKÜR.....</b>	<b>162</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>163</b>

**Bu tez çalışması**

**DDP(V)-2020/8 kodlu ve Kistik Endometriyal Hiperplazi Köpeklerin  
Endometriyum Kanseri Midir? adlı proje ile Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel  
Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

**Projeden çıkan yayınlar:**

**Korlu Y, Yavaş Ö, Aktar A, Bozkurt B, Özyiğit MÖ, Özalp GR:** Expression profile of prostaglandin enzymes in cystic endometrial hyperplasia in dogs: The results of a hypothesis in clinical trial. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 29 (1): 21-31, 2023. DOI:10.9775/kvfd.2022.28403



## TÜRÇE ÖZET

Kistik endometriyal hiperplazi (CEH), kısırlaştırılmamış dişi köpeklerin önemli bir uterus patolojisidir. CEH'e neden olan önemli değişiklikler çoğunlukla, östrus siklusu boyunca gözlenen, endometriyal östrojen/progesteron dengesizliği olarak kabul edilmektedir. Diğer yandan, östrus siklusu boyunca steroid hormon konsantrasyon değişimleri, köpeklerde uterusun immun kontrolünü etkilemektedir. Bu sürecin kontrolü prostaglandinler tarafından gerçekleştirilmektedir. Çünkü geri dönüşsüz doku farklılaşmasının, iyileşmeyen yaralar gibi davrandığı kabul edilmektedir. İnsanlarda, malignite ve prostaglandin sentezi arasındaki ilişkiye dair detaylı bilgiler ışığında, köpek kistik endometriyal hiperplazide prostaglandin sentezini kodlayan genlerin olası transkripsiyon modeli araştırılmıştır.

Endometriyal hiperplazi, kadınlarda endometriyal karsinomun prekürsör lezyonu olarak kabul edilir. Kistik endometriyal hiperplazi yaygın olarak köpeklerde bir malignite olarak kabul edilmese de, bir köpek ve bir kedide kistik endometriyal hiperplazi-pyometra kompleksi ile adenokarsinom vakaları birlikte bildirilmiştir. Bir dişi köpekte kistik endometriyal hiperplazi, pyometra ve uterus neoplazisi tanısı hakkındaki bilgiler sayesinde, bu çalışmanın hipotezinin sonuçları köpek uterin hastalıklar hakkında yeni bilgi sağlayabilir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, kistik endometriyal hiperplazideki yüksek prostaglandin enzim seviyeleri ve düşük östrojen reseptör (ER) skorları, endometriyumun şiddetli farklılaşmasından önce bir ön adım olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kistik endometriyal hiperplazi, köpek, pyometra, prostaglandin sentezi, steroid hormon reseptörleri

## İNGİLİZCE ÖZET

### **Is The Cystic Endometrial Hyperplasia An Endometrial Cancer For The Bitches?**

Cystic endometrial hyperplasia (CEH), is an important uterine pathology of non-castrated female dogs. The substantial changes resulting in CEH are widely accepted as the association of estrogen/progesterone imbalance on endometrium during estrus cycles in bitches. On the other hand, alterations in steroid hormone concentrations during the estrus cycle could influence uterine immune surveillance in bitches. The control of this process is achieved by prostaglandins. Because irreversible tissue differentiation is accepted, they act as wounds that fail to heal. In light of the detailed information on the relationship between malignancy and prostaglandin synthesis in humans, the possible transcription pattern of genes encoding prostaglandin synthesis in cystic endometrial hyperplasia has been studied.

Endometrial hyperplasia is a precursor lesion for endometrial carcinoma in women. Although cystic endometrial hyperplasia is widely not accepted as a malignancy of bitches a case of adenocarcinoma with cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in a dog and a cat was reported. Owing to the information about the diagnosis of cystic endometrial hyperplasia, pyometra, and uterine neoplasia in a bitch, the results of the hypothesis of this study could provide new information on canine uterine disorders. Based on the results of this study, the high levels of prostaglandin enzymes and low ER scores in CEH could be a preliminary step for the next stages of severe differentiation of endometrium.

**Keywords:** Cystic endometrial hyperplasia, canine, pyometra, prostaglandin synthesis, steroid hormone receptors

## 1. GİRİŞ

Kistik endometriyal hiperplazi (CEH), ovariohisterektomi (OHE) yapılmamış dişi köpeklerde görülen en yaygın hastalıklardan biridir. CEH'ye uterus enfeksiyonlarının eşlik etmesiyle bu hastalık CEH-pyometra (CEH-P) kompleksi adını almıştır (Barton, 1992; Snider, Sepoy, & Holyoak, 2011). Üremenin denetlenmesi için uzun süreli kullanılan progestagenler, endometriyal kist oluşumunu hızlandırıldığı bildirilmektedir (Anderson, Gilmore, & Schnelle, 1965; Fidler, Brodey, Howson, & Cohen, 1966). Kadınlarda ve diğer memeli türlerinde endometriyal hiperplazi, kistik foliküllerden, östrojenik implantlardan veya granuloza hücre tümörlerinden kaynaklı uterusun, östrojen tarafından uyarılması ile meydana gelmektedir (Agudelo, 2005; Chandra, Kim, Benbrook, Dwivedi, & Rai, 2016; Potter, Hancock, & Gallina, 1991; Szewczuk, Szewczuk, Czajkowski, Grala, & Semczuk, 2020; Van Cruchten, 2004). Aynı zamanda köpeklerde östrusu baskılamak amaçlı kullanılan egzojen preparatlar, aşırı östrojen stimülasyonuna yol açmakta ve CEH-P kompleksine sebep olabilmektedirler (Anderson ve ark., 1965; Fidler ve ark., 1966). Veteriner hekimlikte antigestagenlerin üretilmesi ile progesteron bağımlı hastalıkların tedavisi için yeni tedavi protokolleri oluşturulmuştur. Progesteron reseptör antagonisti olarak kullanılan aglepristonun kullanıldığı pyometra tedavi protokollerinde, başarılı sonuçlar ortaya konulduğu belirtilmektedir (Arnold, Reichler, & Hubler, 2006; Wehrend, Trasch, & Bostedt, 2003). Tez çalışmasında, CEH-P kompleksinin, aglepriston ile tedavi edilirken, hangi aşamalarında maksimum etki sağladığı ve bu etkinin yangı mekanizmasındaki ekspresyonel değişimleri ele alınmıştır. Aynı zamanda, enfeksiyonun eşlik etmediği kistik endometriyal hiperplazinin köpeklerde malign ya da prekanseröz kabul edilip edilmeyeceği sorularına cevap aranmaktadır.

Kistik endometriyal hiperplaziye neden olan önemli değişimlerin sorumlusu, östrus boyunca gözlenen östrojen/progesteron konsantrasyon değişimleri olarak kabul edilmektedir. Fakat diöstrus boyunca intrauterin mikroorganizma ya da yabancı madde inokulasyonu da benzer değişimlere neden olmaktadır. Östrus siklusu boyunca steroid hormon konsantrasyonu değişimleri uterin immun kontrolü de bozmaktadır ve bu süreçler prostaglandinler tarafından kontrol edilmektedir (Dhaliwal, England, & Noakes, 2002; Nomura, 1983; Schlafer, & Gifford, 2008).

Siklooksijenaz (COX2-PTGS2) hız sınırlayıcı bir enzimdir, araşidonik asitten prostaglandinlere dönüşüme aracılık eder. PGE2 önemli bir COX ürünü olup spesifik sentazlar (PGESs) tarafından sentezlenir. COX2 ve PGE2 sadece fizyolojik değil, onkolojik ve inflamatorik süreçlerde de rol oynar (Dore, 2011; Szweda, Rychlik, Babińska, & Pomianowski, 2019). PGE2 hücrel etkisini EP reseptörleri aracılığıyla gösterir (EP1, EP2, EP3, ve EP4). G proteinlerine kenetlenerek etki gösteren reseptör ailesindedir (Tong ve ark., 2018). Kronik inflamasyon ve endometriyal kanserler ile yakın ilişkisinden dolayı karsinogenezise neden olan merkezi inflamatorik yolak COX-2-PGE2-EPs olarak isimlendirilir (Ye, Wang, Jeschke, & von Schönfeldt, 2020).

Kadınlarda gözlenen endometriyal hiperplazinin steroid hormon artışına bağlı olması, köpeklerde oluşan CEH ile benzer etiyopatolojiye sahip olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada, CEH- P kompleks hastalığında etkin bir tedavi olarak kullanılan aglepristonun etki süreci izlenmiş olup aglepristonun, hastalığı ne kadar geriletmediği, tedavi protokollerinin hangi aşamalarında maksimum etki gösterdiği ve yangı mekanizmasındaki ekspresyonel ve endokrinolojik değişimler üzerindeki etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Köpeklerde bugüne kadar kistik endometriyal hiperplazinin, endometriyum kanseri olarak kabul edilmemesine rağmen, bu patolojinin malign ya da premalign olarak kabul edilip edilemeyeceğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Köpeklerin Seksüel Siklusları

Köpekler, çevresel faktörlere bağlı olmaksızın siklik aktiviteye sahip, spontan ovulasyon gösteren monoöstrik hayvanlardır (Concannon, 2011). Östrus siklusları proöstrus, östrus, diöstrus ve anöstrus olarak dört dönemde incelenir (Feldman, & Nelson, 1996; Johnston, Kustritz, & Olson, 2001). Seksüel siklusun başlangıcı olarak kabul edilen proöstrus, ortalama 9 gün (0-27) olarak bildirilmektedir. Endokrinolojik olarak ovaryum üzerinde gelişen folliküllerden salgılanan östradiol-17 $\beta$ 'nin hâkim olduğu ve klinik olarak vulvar ödem ve kanama ile karakterizedir (Concannon, Weigand, Wilson, & Hansel, 1979; Feldman, & Nelson, 1996). Östrus, ortalama 9 gün (4-24 gün) olarak kabul edilen ve dişi köpeğin çiftleşmeye izin verdiği dönemdir. Azalan östradiol-17 $\beta$  ve ovarian folliküler hücrelerin luteinizasyonu ile artan progesteron, östrus davranışlarının da sorumlusudur (Feldman, & Nelson, 1996). Diöstrus, ovulasyon sonrasında luteal progesteronun iştirakiyle, baskın progestatif dönemi belirtir. Ortalama süre 65 (55-90) gün olarak bildirilmekte ve gebelik oluşumuna bağlı olmaksızın, tüm köpeklerde identik endokrinolojik profil gözlenir (Johnston ve ark., 2001). Anöstrüs, diöstrüs veya gebeliğin sonunu izleyen seksüel dinleme evresi olup proöstrusun başlangıcına kadar geçen zamandır (Concannon, McCann, & Temple, 1989). Anöstrusun ortalama süresi 3 ila 4 aydır ve bu dönemde östradiol-17 $\beta$  ve progesteron seviyeleri bazal değerlerin altındadır (Arthur, Noakes, & Pearson, 1983). Hipotalamik-hipofiz-ovarian eksen'in kontrolünde gerçekleşen endokrinolojik değişimler, östrus siklusunun faz geçişlerinde oldukça kritiktir (Okkens, & Kooistra, 2006).

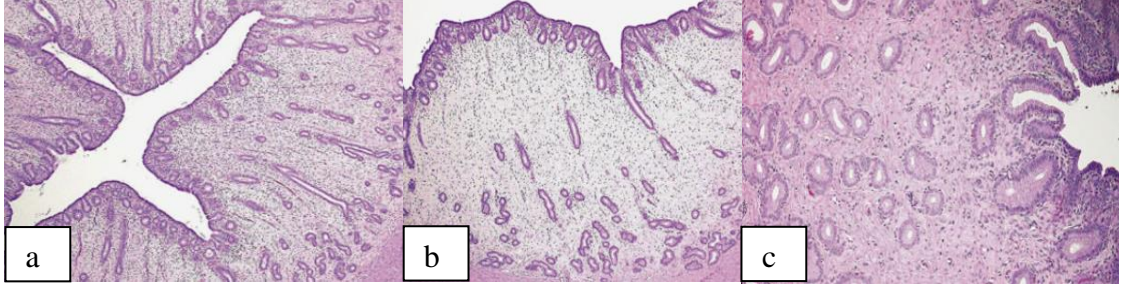
### 2.2. Köpeklerde Seksüel Siklusların Uterus Üzerindeki Etkileri

Östrus siklusu süresince, köpek genital sistemi ve meme dokusunda belirgin morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler gözlenir (Barrau, Abel, Verhage, & Tietz, 1975; Rehm, Stanislaus, & Williams, 2007; Vermeirsch, Simoens, Hellemans, Corny, & Lauwers, 2000a; Vermeirsch, Simoens, & Lauwers, 2000b). Siklusun dört farklı fazında meydana gelen bu değişimleri, steroid hormonlar, matriks metaloproteinazlar

(MMPs) ve apoptozis mekanizmasının kontrol ettiği ileri sürülmektedir (Chu, Salamonsen, Lee, & Wright, 2002a; Chu, Wright, & Lee, 2002b; Van Cruchten, Van den Broeck, Duchateau, & Simoens, 2003; Vermeirsch ve ark., 2000a). Östrus siklusunda steroid hormonlar ve reseptörlerinin değişiklik göstermesi, uterus ve özellikle endometriyumda değişikliklere neden olmaktadır. Östrus siklusu 4 aşamaya ayrılır; östrus, glandüler proliferasyon, gerileme ve dinlenme aşamalarıdır (Keller, 1909). Östrus aşaması, ayrıca sırasıyla proöstrus ve erken östrusa karşılık gelen 2 aşamaya bölünür.

Proöstrusta glandüler epitelde hiperemi, ödem ve kornu uterilerin büyümesi görülür (Barrau ve ark., 1975). Düzensiz ödeme bağlı olarak, kesitlerde "X" şeklinde gözlenen lümene, yüzey epiteli, endometriyal epitel boşlukları ve stromada artan vaskülatörük proliferasyon eşlik eder (Van Cruchten, 2004). Proöstrusun sonuna doğru foliküllerin luteinize edici granüloza hücreleri nedeniyle, progesteron konsantrasyonu yükselmeye başlar (Concannon, 1986; Schaefers-Okkens, & Kooistra, 1996) ve proöstrusun sonlarına doğru endometriyal bezler pürüzlü, sektorik hale gelir (Pretzer, 2008a). Mikroskopik olarak da, bazal bezlerin kriptlerinde mitotik figürler belirgin şekilde gözlenirken, yüzey epitelinde çok nadir olarak bulunur (Van Cruchten, 2004).

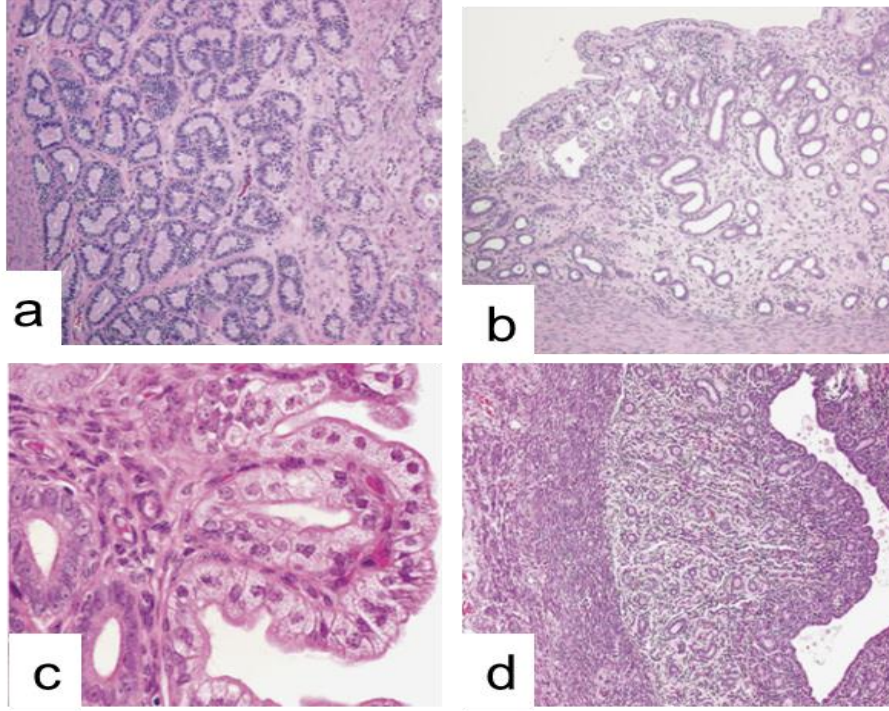
Erken östrusta, endometriyum ödemi devam eder ve ovulasyon sonrasında azalır (Şekil 1). Histolojik olarak hipertrofik salgı bezleri artar ve miyometrial düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve hipertrofisi devam eder (Rehm ve ark., 2007). Bazal bezler ve kriptlerde mitotik figürler gözlenmeye devam eder. Gelişen korpus luteumun etkisiyle grandular proliferasyon en üst seviyededir (Van Cruchten, 2004). Endometriyal bezler, en büyük çapa östrus sonrası 20-30. günlerde ulaşır (Şekil 2) (Kalkan, & Horoz, 2007; Pretzer, 2008a).



**Şekil 1:** Uterusun, erken proöstrus, erken östrus ve östrus dönemlerindeki histolojik görüntüsü. a: Tipik "X" şekilli lümen, artan lüminal kript ve bazal bezler ile endometrial stromada ödem H&E, x4; b: Endometrial stromada ödem. H & E, x4; c: Endometrial bezlerde hipertrofi ve ödemin yerini alan olgun kollajenler. H & E, x4. (Rehm ve ark., 2007).

Diöstrus evresinde; artan serum progesteron konsantrasyonu, uterusun histolojisinde büyük değişiklikler meydana getirdiğinden erken ve geç diöstrus olarak ikiye ayrılır (Vermeirsch, 2001). Diöstrusun başlarında, endometriyum ve miyometriyum en büyük kalınlığa ulaşır (Rehm ve ark., 2007) (Şekil 2). Uterus değişikliklerinin gerilemesi, diöstrusun 3. haftasında başlar ve yaygın endometriyal apoptozis (Şekil 2) şekillenir. Diöstrus evresinin bitmesinin, herhangi net bir klinik belirtisi olmaması ile birlikte, serum progesteron seviyelerinin düşmesi ile tanımlanabilir (Rehm ve ark., 2007).

Anöstrusta östradiol-17 $\beta$  ve progesteron seviyeleri bazal değerlerin altında kaldığından, kriptlerin ve bazal bezlerin sayısı daha da azalır (Barrau ve ark., 1975; Vermeirsch, Simoens, Lauwers, & Coryn, 1999; Vermeirsch ve ark., 2000a) (Şekil 2).



**Şekil 2:** Uterusun erken diöstrus, geç diöstrus ve anöstrustaki histolojik görüntüsü. a: Çok sayıda farklılaşmış bazal bezler ve bol sitoplazmalı lümen kriptleri H & E, x10; b: Kollabe endometriyum H & E, x10; c: Luminal ve kript hücrelerde sitoplazmanın durumu, H & E, x60; d: Küçük endometriyal bezler ile çevrili atrofik endometriyum, myometriyum, stroma, H & E, x10. (Rehm ve ark., 2007).

Endometriyuma etkisi bulunan matriks metalloproteinazlar (MMPs), progesterona maruz kalan endometriyumda en düşük seviyede kalmakla beraber, ortamdaki progesteronun çekilmesiyle artma eğilimindedir (Lockwood, Krikun, Hausknecht, Papp, & Schatz, 1998; Salamonsen, Butt, Hammond, Garcia, & Zhang, 1997). Steroid hormonların etkisiyle ovulasyon ve embriyonik implantasyon için uygun endometriyal ortam gerekmektedir ve bu ortamda MMP'ler önemli bir rol oynamaktadır (Concannon, Tsutsui, & Shiella, 2001; Shia, Chu, Chou, & Lee, 2011). Sağlıklı uterusu çok az veya hiç eksprese edilmemekle birlikte, endometriyumun rejenerasyonunda görevi büyüktür (Chu ve ark., 2002a; Parks, 1999). Ayrıca, bağ doku yenilenmesi, normal büyüme ve gelişme için MMP'ler gerekli olup, inflamasyon ve kanser gibi birçok hastalıkta da matriks yenilenmesi gözlenmektedir (Lockwood ve ark., 1998). Yapılan çalışmalarda, köpeklerin CEH'inde, MMP'lerin yükselmediği, ancak CEH-P komplekste yükseldiği tespit edilmiştir (Chu ve ark., 2002a). MMP

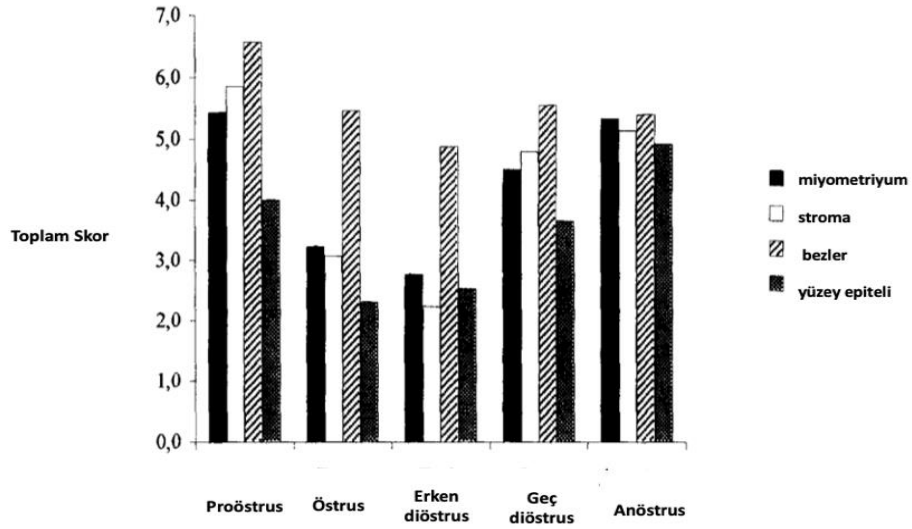


aktivitesinin bozulması halinde malignant büyüme ve tümör invazyonunun ayırıcı tanısı da konulabilmektedir (Lockwood ve ark., 1998).

Endometrial değişikliklerin üzerinde etkisi olan apoptozis, östrus siklusunda endometriyal hücrelerin rejenerasyonunda ve diğer türlerde de olduğu gibi plasenta gelişiminde gereklidir (Akcali, Khan, & Moulton, 1996). Erken diöstrusta, endometriyal yüzey epiteli oldukça değişkendir, ancak sayıları az olduğundan apoptozis net olarak tanımlanamamaktadır. Geç diöstrus ve anöstrusta ise, kripler ve bazal bezlerde yüksek apoptotik indeks saptanmaktadır (Keller, 1909). Bu bulgular apoptozisin siklik endometriyumdaki glandüler gerilemeden sorumlu olduğunu düşündürmektedir (Van Cruchten, 2004). Dahası, köpek CEH ve pyometra patogenezisinde, apoptozisin olumsuz rol oynadığı ileri sürülmektedir (Noakes, Dhaliwal, & England, 2001).

### **2.2.1. Östrojen Reseptörleri Yerleşimi**

Östrus döngüsü boyunca steroid reseptörlerin lokalizasyonu ve etkileri, endokrinolojik değişimlere bağlı farklılık göstermektedir. Proöstrus döneminde artan östradiol  $17\beta$  konsantrasyonuna bağlı olarak, östrojen reseptörlerinin boyanma yoğunluğu ve oranı, diğer dönemlere göre daha yüksek bulunmaktadır (De Cock, Ducatelle, & Logghe, 1997b; Vermeirsch ve ark., 1999). Östrojen (ER) ve progesteron (PR) reseptörlerinin nükleer boyanma yoğunluğunun, uterus epiteli, stroma ve düz kas hücrelerinde artması, östradiol  $17\beta$  konsantrasyonunun yüksekliğiyle ilişkilendirilmektedir. Progesteron reseptör sayısının bu dönemde artması, yine aynı nedene bağlanmaktadır (Vermeirsch ve ark., 1999; Vermeirsch ve ark., 2000a). Östrus ortasında artmaya başlayan ve diöstrus döneminde yüksek konsantrasyonda seyreden progesteronun, stroma ve yüzey epitelinde östrojen reseptörlerinin regülasyonunu kontrol ettiği, değişen endokrinolojik profilden glandüler reseptörlerin çok az etkilendiği bildirilmektedir. Siklus boyunca stroma-östrojen reseptörlerinin, epitel-östrojen reseptörlerine göre farklı varyasyonlarda gözlenmesi, siklik endometriyal değişimlerin kontrolünün bu hücrelerce sağlandığını gösterir (Vermeirsch ve ark., 1999) (Şekil 3).



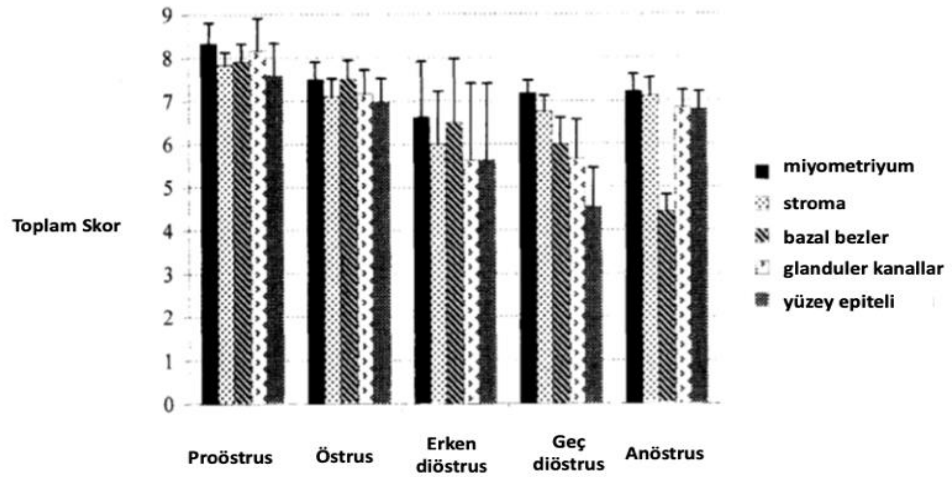
**Şekil 3:** Kornu uterilerde bulunan östrojen reseptörlerinin toplam boyama skorları (Vermeirsch ve ark. 1999).

Sağlıklı köpek uterusunda östrojen reseptör boyanma yoğunluğu, CEH’li köpeklere göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Ancak CEH ve pyometra kompleksinin gözlemlendiği hastalarda, ER boyamasının zayıf olduğu tespit edilmektedir (Marinkovic, Anicic, Vakanjac, Nacid, & Magas, 2018). Endometriyal bezlerdeki kistik dejenerasyonların yüksek olduğu metaplazik hücrelerde, nükleer boyanma yoğunluğunun daha az olduğu belirlendiğinden, östrojen reseptör regülasyonunun, CEH patogenezisinde önemli rol oynayabileceği belirtilmektedir (De Cock, Vermeirsch, Ducatella, & De Schepper, 1997b). En düşük ER, PR oranının östrusta belirlenmiş olması, progesteron konsantrasyonunun artmasıyla ilişkilendirilmektedir (De Cock ve ark., 1997b; Vermeirsch ve ark., 1999; Vermeirsch ve ark., 2000a). Ancak CEH’li köpeklerde, endometriyal bezlerin proliferasyonu sınırlı miktarda östradiol 17 $\beta$  salınımla bile, östrojen reseptör ekspresyonunu azaltmadan devam ettirmektedir (De Cock ve ark., 1997a; Vermeirsch ve ark., 1999).

### 2.2.2. Progesteron Reseptörleri Yerleşimi

Progesteron reseptörlerinin uterusun yüzey epitel hücrelerinde, endometriyumun glandüler kanallarında ve bazal bezlerinde, endometriyal stroma hücrelerinde ve miyometriyal düz kas hücrelerinde olduğu bildirilmektedir. Östradiol 17 $\beta$ :progesteron oranının yüksek olduğu dönemde PR sayısı artarken, bu oranın azalmaya başladığı erken diöstrus döneminde, progesteron reseptörlerine olumsuz etki

başlamaktadır. Proöstrusta PR zayıf boyanma reaksiyonları gösterirken, proöstrus sonuna doğru ve östrusta bu yoğunluk artmaktadır (Marinkovic ve ark., 2018). Progesteron konsantrasyonunun yüksek olduğu diöstrus aşamasında artan PR'ye bağlı olarak, bazal bezler hariç tüm uterus hücrelerinde, oldukça yüksek pozitif reaksiyon meydana gelmektedir (Marinkovic ve ark., 2018; Vermeirsch ve ark., 2000a) (Şekil 4). PR lokalizasyonu stromal hücrelerde, epitel hücre yerleşimine göre daha yoğun bulunduğu ortaya konulmaktadır (Dhaliwal, England, & Noakes, 1999; Vermeirsch ve ark., 2000b). ER boyanma dağılımında olduğu gibi, stroma-PR boyanmaları da, uterus hastalıkları patolojisinde rol oynamaktadır (Vermeirsch ve ark., 2000a).



**Şekil 4:** Kornu uterilerde bulunan progesteron reseptörlerinin toplam boyama skorları (Vermeirsch ve ark., 2000a).

CEH-P kompleksi gözlenen köpeklerin uterus boyamalarında progesteron oranı, sağlıklı köpeklere göre oldukça yüksek olduğu bildirilmektedir (De Bosschere, Ducatelle, Vermeirsch, Simoens, & Coryn, 2002b). Diğer yandan CEH'li tüm köpeklerde, orta düzeyde PR ekspresyonu tespit edilmektedir (Marinkovic ve ark., 2018).

### 2.3. Köpeklerde Kistik Endometriyal Hiperplazi (CEH)

Dişi köpeklerde sıklıkla gözlenen kistik endometriyal hiperplazi-pyometra kompleksi (CEH-P), çok sayıda araştırmacının ilgi odağı haline gelmektedir. Etiyopatolojik nedenleri ve sınıflandırılmasına ait soru işaretleriyle birlikte, hastalığın

anlaşılması oldukça güçtür. 1950’li yılların başından itibaren bu patoloji, hidrometra, pyometritis, kataral endometritis, kronik kistik endometritis, kronik subinvolyüsyon gibi farklı isimlendirmelerle gündeme gelmiştir. Olgularda yüksek oranda kistik glandular hiperplazi gözlenmesiyle, hastalık ilk kez ‘hiperplastik endometritis’ olarak tanımlanmıştır (Low, 1954). Aynı dönemde yapılan başka bir araştırma sonucunda, uterus iltihaplanmaları ile ilişkili kistik endometriyal glandüler hiperplazi olgularının varlığına ‘post östral sendromu’ tanımı yapılmaktadır (Dow, 1959). Ancak hiperplastik değişimlerin her zaman enfeksiyonla ilişkili olmadığı gerçeğinin ortaya çıkmasıyla, Dow’un yaptığı 172 köpek uterusunun değerlendirildiği büyük bir çalışmanın sonucunda, günümüzde ‘CEH / pyometra kompleksi’ olarak adlandırılan patoloji, ilk kez bu araştırmacı tarafından bu isimle önerilmiştir.

### **2.3.1.CEH’in Tanımı**

CEH, ovariohisterektomi (OHE) yapılmamış dişi köpeklerde görülen en yaygın hastalıklardan biridir. Endometriyal kistler, endometriyal glandüler epitelden köken alan bezlerin hiperplazisi ve hipersekresyonudur (Barton, 1992; Snider ve ark., 2011). Endometriyal glandüler hiperplazi ile başlayan patoloji, bezlerin kistik dönüşümüne kadar ilerlemektedir (De Bosschere, Ducatella, Vermeirsch, Van Den Broeck, & Coryn, 2001; Smith, 2006). Bununla birlikte, köpeklerde CEH, infertilite haricinde herhangi bir hastalık bulgusu göstermediğinden, tanısı geç konmakta ve oldukça zordur (McEntee, 1990; Barton, 1992; Niskanen, &Thrusfield, 1998).

### **2.3.2. CEH’in Etiyopatolojisi**

CEH, patogenezi hala bilinmeyen, dişi köpeklerde en sık görülen ve en önemli endometriyal patolojidir. Gelişen CEH çoğunlukla steril koşullardadır, ancak bakteriyel kontaminasyon söz konusu olduğunda pyometra ile kompleks bir hastalık haline gelir (Bigliardi ve ark., 2004). Köpek endometriyumunda gözlenen, dört farklı hiperplastik patoloji bildirilmektedir; kistik-hiperplazi pyometra kompleks, yalancı gebelikle ilişkili endometriyal hiperplazi, östrojen-ilişkili hiperplazi ve endometriyal polipler (McEntee, 1990). Ancak etiyopatolojisi tam olarak açıklanamamış bu hastalığın nedenlerinden, altı çizilen en önemli faktörlerin endokrinolojik problemler, östrus boyunca endometriyumda östrojen/progesteron dengesizliği, uterin irritantlar ve bakteriyel enfeksiyonlar (*E.coli*) olabileceği belirtilmektedir (De Bosschere,

Ducatelle, Vermeirsch, & Coryn, 2002a; Dhaliwal ve ark., 2002; Kempisty ve ark., 2013; Nomura, 1983).

Diğer memelilerden farklı olarak oldukça uzun diöstrusa sahip köpeklerde, progesteronun bu denli uzun süreli ve baskın salınımı, CEH'nin patogenezinde önemli bir rol üstlenir (Concannon, Hansel, & Visek, 1975; Ververidis ve ark., 2004). Östrus sonunda artmaya başlayan progesteron konsantrasyonu, endometriyumda kalınlaşmalar meydana getirir (Feldman, & Nelson, 1987; Feldman, & Nelson, 1996). Bu endokrinolojik değişim, endometriyumda glandüler proliferasyon ve sekresyona neden olurken (Barrau ve ark., 1975; Chen, Lee, & Wright, 2006) meydana gelen salgı aktivitesiyle endometriyal bezlerin sayısı ve boyutu artar (Dow, 1959). Böylece, endometriyal bezlerde ve lümende sıvı birikimi şekillenir ve meydana gelen endometriyal hiperplazi, kistik hale dönüşür (Nelson, & Feldman, 1986; Feldman, & Nelson, 1987). Üremenin denetlenmesi için uzun süreli kullanılan progestagenler, endometriyal kist oluşumunu hızlandırmaktadır (McEntee, 1990). Östradiol 17 $\beta$ , ya dolaylı olarak uterusun progesterona olan duyarlılığını artırır ya da östrojenden etkilenen endometriyum bezlerinde dilatasyon ve kistleşmeye neden olur (McEntee 1990; Nolte, Volpert, & Brunckhorst, 1990; Ververidis ve ark., 2004). Foliküler kist, granulosa hücre tümörü gibi patolojiler endojen yolla ve östrusu baskılama amaçlı kullanılan preparatlar egzogen olarak, aşırı östrojen stimülasyonuna yol açmaktadır. Bu durumun endometriyum hiperplazisine neden olabileceği öne sürülse de, spontan CEH gelişiminden çok, pyometranın patogenezinde etkili olduğu savunulmaktadır (Arthur, Noakes, & Pearson, 1996; Fayrer-Hosken, Durham, & Allen, 1992; McEntee 1990; Smith, 2006).

Endokrinolojik faktörlerden progesteronun neden olduğu endometriyal değişikliklerin, CEH patogenezindeki rolü kabul edilse de, sağlıklı köpeklerle, hastalıklı köpeklerin serum progesteron konsantrasyonları arasında fark olmaması, CEH'nin oluşumunda, östrojen/progesteron reseptör anormalliklerinin etkili olabileceği sonucunu ortaya çıkarmaktadır (De Cock ve ark., 1997a; De Cock ve ark., 1997b; Hardy, & Osborne 1974; Vermeirsch ve ark., 1999; Vermeirsch ve ark., 2000a). Uterusa yerleştirilen irritant maddelerin CEH'nin patogenezindeki etkisinin test edildiği bir çalışmada, bu irritant maddelerin CEH'ye neden olduğu ancak östrojen ve progesteron reseptörleri açısından, spontan gelişen CEH'ye benzemediği ortaya

çıkılmaktadır. Spontan gelişen CEH'de, ER ve PR yüksek oranda eksprese edilirken, irritan etkili CEH'deki reseptör boyanmalarının pyometra ve erken gebelik dönemiyle benzer olduğu öne sürülmektedir (De Bosschere, Ducatelle, & Tshamala, 2002c; De Bosschere, Ducatelle, Tshamala, & Coryn, 2003; Vermeirsch ve ark 2000b). Ancak irritan etkili maddelerin sadece progesteron varlığında bu değişimi gösterdiği de açıklanmaktadır (Chen ve ark., 2006). Aynı etkinin başka bir irritant madde olan bakteriyel enfeksiyonlarda da olabileceği ileri sürülmekte ve spontan gelişen CEH'nin patogenezisini kontrol eden başka mekanizmaların da olabileceği düşünülmektedir (Noakes ve ark., 2001; Nomura, 1983; Nomura, & Funahashi, 1999).

CEH'in gelişmesinde öne sürülen bir hipotez, erken diöstrusta gözlenen geçici progesteron yetersizliğidir. Bu durum östrojen ve progesteron reseptörlerinin yetersiz artışına neden olabilir. Çünkü köpeklerde progesteronun, hem progesteron hem de östrojen reseptör gelişimini azalttığı bilinmektedir. Bu hipotez araştırmacılar arasında kabul görse de, köpeklerde uzun süren ve yüksek konsantrasyonda üretilen progesteronun, endometriyal bezlerdeki değişimleri göz önüne alındığında, hormonun bu olumsuz etkisini değerlendirmek zordur (Clarke, & Sutherland, 1990; De Cock ve ark., 1997a; Graham, & Clarke, 1997; Vesanen, Isomaa, Alanko, & Vihko, 1991). Ancak, spontan CEH oluşumu için, geç östrus-erken diöstrus döneminde, epostan kullanılarak progesteron yetersizliği oluşturulan köpek modellerinde, CEH oranı yüksek bulunduğu bildirilmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda, LH yetmezliğine bağlı luteinizasyon eksikliğinin, CEH patogenezinde önemli bir faktör olabileceği savunulmaktadır (De Bosschere ve ark., 2003).

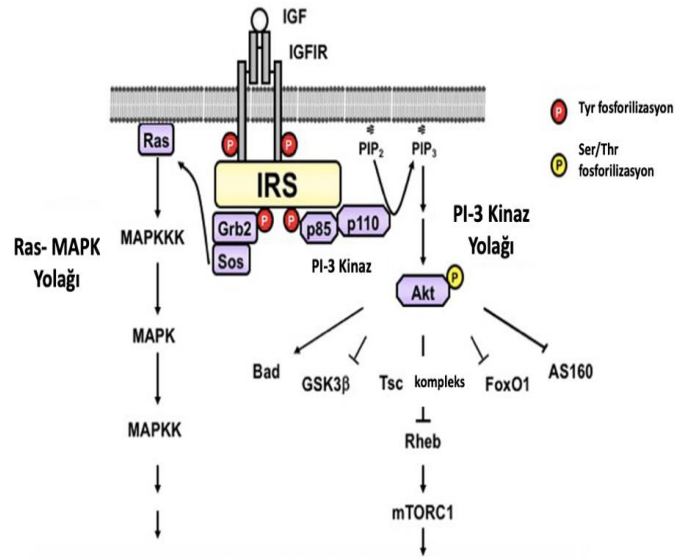
Kadınlarda ve diğer memeli türlerinde endometriyal hiperplazi, kistik foliküllerden, östrojenik implantlardan veya granüloza hücre tümörlerinden kaynaklı uterusun, östrojen tarafından uyarılması ile meydana gelmektedir (Agudelo, 2005; Chandra ve ark., 2016; Potter ve ark., 1991; Szewczuk ve ark., 2020; Van Cruchten, 2004). Diğer yandan kadınlarda progesteronun endometriyal atrofiyi indüklediği (Seidman, Ashton, & Norris, 1997), köpeklerde ise egzogen progesteron uygulamalarının endometriyal hiperplaziye yatkınlığı arttırdığı tespit edilmiştir (Anderson ve ark., 1965; Fidler ve ark., 1966). Progesteron kullanımı, kedilerde uterus karsinomu için en önemli risk faktörüyken, köpeklerde progesteron kullanımına bağlı uterus karsinomları nadir olarak görülmektedir (Harrenstien, Munson, & Seal, 1996;

Kennedy, 1993). Bu durum köpek endometriyumunun diğer türlere kıyasla progesterona farklı bir şekilde yanıt verdiğini göstermektedir (Bhatti ve ark., 2007).

### **2.3.3. CEH'in Moleküler Etiyopatogenezi ve Etkileyen Faktörler**

#### **2.3.3.1. Büyüme Faktörleri**

Köpekler genital sistem ve meme dokusunda etkin rol oynayan büyüme faktörleri ve reseptörleri, hücre büyümesi, farklılaşması, anjiogenezis ve apoptozis gibi fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır (Gama, Gärtner, Alves, & Schmitt, 2009; Kempisty ve ark., 2013). Ancak köpek ve insan meme kanserlerinde primer sorumlunun steroid hormonlar olmadığı, aynı zamanda büyüme faktörlerinin de, özellikle IGF-I (İnsulin Benzeri Büyüme Hormonu I), IGF-IR (İnsulin Benzeri Büyüme Hormonu Reseptörü)'nün süreçte etkin rol oynadığı ortaya konmaktadır (Dolka, Malicka, Motyl, & Sapierzynski, 2010). IGF-I ya da IGF-II ligandlarının, IGF-IR'ye bağlanmasıyla, reseptörün sitoplazmik  $\beta$ -alt biriminde, IGF-IR tirozin kinaz fosforilasyonu meydana gelir ve hücre farklılaşmasında etkili Ras/MAPK ve PI-3K/Akt yollarını aktive ederek apoptozisi inhibe eder (Hakuno, & Takahashi, 2018) (Şekil 5). IGF-IR ekspresyonundaki anormal artış, meme tümörü agresifliğinin bir belirteci olduğu gibi, kanser hücre migrasyonu ve hücre-hücre adezyonlarında da etkin rol oynar. İnsan meme tümörlerindeki mekanizma net olarak ortaya konmuş olmasına rağmen, köpek meme karsinogenezisindeki mekanizmalar netlik kazanmamaktadır. IGF-I, IGF-IR ile ilgili yapılan birkaç araştırma sonucunda, cinsiyet hormonları ile IGF-I'in birlikte, otokrin/parakrin etkilerle karsinogenezisi stimüle edebileceği hipotezi ortaya konmaktadır (Dolka ve ark., 2010).



**Şekil 5:** IGF / insülinin yaygın olarak kabul edilen hücre içi sinyal mekanizması (Hakuno, & Takahashi, 2018)

Köpeklerde, uterus epitel hücreleri sitoplazmasında, endometriyum ve miyometriyumun düz kas hücrelerinde bulunan, yüksek mitojenik etkiye sahip, progesteron kaynaklı IGF-I üretimi mevcuttur. IGF-I'nin, CEH'li köpeklerde endometriyumun epitel hücrelerinde ve çevresinde bulunan yüksek IGF-I konsantrasyonlarının, CEH gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği sonucuna varılmaktadır (De Cock, Ducatelle, Tilmant, & De Schepper, 2002). Aynı zamanda endometriyal proliferasyona katılan IGF-I, eksudatif ve dejeneratif inflamatuvar reaksiyonla birlikte, endometriyal değişikliklere sebep olmaktadır (Schlafer, & Gifford, 2008). İnsulin-büyüme hormonunu kodlayan genlerin ekspresyonlarındaki hatalar, hormonal farklılaşmalar adı altında, endometriyumda patolojik gelişimlere neden olabilmektedir (Kempisty ve ark. 2013).

Hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozis haricinde, diğer ekstrasellüler hücre matrisi oluşumu ve yıkılması, kemotaksis gibi fizyolojik süreçleri kontrol eden Transforming Büyüme Faktörü (TGF- $\beta$ ) ailesi de, genital sistem üzerinde oldukça etkilidir (Stepien-Wyrobiec, Hrycek, & Wyrobiec, 2008). TGF- $\beta$  ekspresyonunda gözlenen azalma, otoimmün hastalıklardan ovaryum tümörlerine kadar birçok hastalığın göstergesidir. Ovariyan foliküllerde, teka ve granuloza hücrelerinin proliferasyonu ve atrezisinde, luteinizasyonda ve steroid mekanizma kontrolünde etkin rol oynar (Flanders, & Burmester 2003). Uterin mukozada



ekspresyonları belirlenen TGF- $\beta$ 'nın, endometriyum hastalıklarında nasıl bir ekspresyon profiline sahip olduğu bilinmemektedir.

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) ailesi de epitel hücre gelişiminde, neoplazilerde rol oynar ve EGF-R reseptörü aracılığıyla aktive olur. Ekspresyon seviyesi progesteron ve östrojen gibi cinsiyet hormonlarına bağlıdır (Kida ve ark., 2010; Komatsu, Maekawa, Takeuchi, & Takahashi, 2003). Köpek endometriyumunda TGF $\alpha$  ekspresyonları, seksüel sıkluslara göre belirlenmekte olup, epitel hücre proliferasyonu ve regresyonunda da etkili olan bu faktörün, endometriyal patolojilerde rol oynayabileceği belirtilmektedir (Kempisty ve ark., 2013; Kida ve ark., 2010).

### **2.3.3.2. Hormon Uygulamaları ve Büyüme Faktörleri**

Endojen progesteron salınımı kadar, östrusu baskılamak amacıyla kullanılan sentetik progestagenlerin kullanımı da, meme kaynaklı büyüme hormonu (GH) hipersekresyonuna neden olarak, memede hiperplastik duktular değişim ve CEH gelişimine neden olduğu bildirilmektedir (Bhatti ve ark., 2007). Büyüme hormonu (GH) fazlalığı, meme bezindeki değişimlere neden olduktan sonra, progesteron konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak geri dönüşümlüdür (Selman, Mol, & Rutteman, van Garderen, & Rijnberk, 1994a). GH, IGF-I gibi büyüme faktörlerinin majör kontrol merkezidir (Cohick, & Clemmons, 1993; Simmen, 1991). GH hipofiz kaynaklı bir hormon olmasına rağmen, köpeklerde progestin kaynaklı hiperplastik duktular meme epitelinden üretilen GH ile aynı gen kodlarına sahiptir (Feldman, Ruan, Cunningham, Wells, & Kleinberg, 1993; Mol ve ark., 1995a; Mol ve ark., 1995b).

Endojen progesteron artışı ve egzogen progesteron kullanımı ile GH ekspresyonu artmakta, bu artışa yanıt olarak IGF-I üretimi hızlanmaktadır ve IGF-I endometriyal proliferasyonunda etkin bir rol oynamaktadır (De Cock ve ark., 2002; Selman, Mol, Rutteman, & Rijnberk, 1994b). Bunun sonucunda endometriyal glandüler hiperplazi ile başlayan değişimler, bezlerin kistik dönüşümüne kadar ilerler ve CEH oluşur (De Bosschere ve ark., 2001; Smith, 2006). Egzogen hormon uygulamaları, lokal steroid hormon reseptörlerinin miktar ve dağılımında değişikliklere neden olarak, uterus patolojilerine sebebiyet verir (De Bosschere ve ark., 2002a; De Bosschere ve ark., 2002b; Dhaliwal ve ark., 1999; Colombo ve ark., 1982; Vermeirsch ve ark., 2000a; Vermeirsch ve ark., 1999; Ververidis ve ark., 2004)

GH, dişi köpeklerin normal meme dokusundan eksprese edilmesiyle morfogenezisi kontrol ettiği, hiperplastik ve neoplastik meme dokusunda eksprese edildiğinde ise tumorogenezisi indüklediği ortaya konulmaktadır (Mol ve ark., 1995a; Mol ve ark., 1995b). Progesteron ile uzun süreli tedavi sonrasında, GH meme dokusunda en yüksek ekspresyon seviyelerine ulaşmaktadır. Uzun süre progesteron kullanılan köpeklerin meme karsinomları üzerine yapılan çalışmalarda, GH'nun, progesteron reseptörü negatif doku örneklerinde de bulunduğu ve bunun malign transformasyondan sonra, GH ekspresyonunun progesterondan bağımsız hale gelebileceğini göstermektedir (Mol ve ark., 1995a; Mol ve ark., 1995b). Yapılan bir araştırmada mastektomize ve sağlıklı meme dokusuna sahip köpeklere, 12 haftalık Medroksiprogesteron asetat (MPA) uygulamasından sonra, mastektomize köpeklerde meme malignitesini gösterecek herhangi bir patolojiye rastlanmamış olup, sağlıklı meme dokularında malignite gözlenmektedir. Bunun ötesinde, tüm gruplarda CEH gözlenmekte ve meme GH'nun, progesteronla uyarılmış CEH gelişimi için gerekli bir faktör olmadığı sonucu ortaya çıkmaktadır (Bhatti ve ark., 2007). Ayrıca, egzijen ve endojen progesteron uygulamalarının, köpeklerde akromegalik özelliklere ve glukoz intoleransına yol açan, büyüme hormonu (GH) fazlalığı sendromunu indükleyebileceği sonucu da ortaya konulmaktadır (Concannon, Altszuler, Hampshire, Butler, & Hansel, 1980; Eigenmann, & Rijnberk, 1981; Mol ve ark., 1995a).

İnsanlarda, ovaryum hormonlarının meme gelişiminin tüm aşamalarında önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar olmasına rağmen, genel olarak epidemiyolojik çalışmalar, progesteron tedavisinin meme kanserinde risk oluşturduğunu desteklememektedir. Bununla birlikte, oral kontraseptifler veya depo MPA'lar, endometriyal kanser geliştirme riski üzerindeki, inhibitör etkinin aksine, kadın meme kanseri riskini azaltmamaktadır (Pike, Henderson, Casagrande, Rosario, & Gray, 1981; van Leeuwen, 1991). Bu artmış riskin, östrojene mi yoksa kontraseptiflerin progesteron içeriğine mi atfedilebileceği sorusu tatmin edici bir şekilde yanıtlanmamak ile birlikte, artan riskin progesteron bileşenine bağlı olabileceğini düşündürmektedir (Kay, & Hannaford, 1988; Lee ve ark., 1987). Köpeklerde östrojen ve progesteronla pek çok toksisite, çalışması yapılmakta ve uzun süreli östrojen uygulamasının, köpeklerde meme tümörlerinin insidansını arttırmadığı, progesteron tedavisinin ise, doz-bağımlı meme tümörü gelişimine neden olduğu belirtilmektedir

(Misdorp, 1991; Rutteman, 1992). Bununla birlikte tamoksifen uygulamalarının uterusu hormon reseptör ekspresyon değişimlerine neden olarak CEH'ye neden olabileceği bildirilmiştir (Tavares ve ark., 2010). Kadınlarda olduğu gibi, köpeklerde de tamoksifen kullanımının uterus endometriyal hücre proliferasyonuna neden olduğu bildirilmiştir. Düşük dozlarda bile, köpek endometriyal hücrelerde progesteron reseptör sayısını artırdığı ve endometriyal hiperplaziye neden olduğu açıklanmıştır (Baker, 1994; Morris, Dobson J, & Bostock, 1993). Tamoksifen anti-östrojen etkili bir sentetik moleküldür ve kadınlarda östrojen reseptör bağımlı meme kanserlerinde kullanılmaktadır. Ancak bu molekülün doku spesifik östrojen reseptör aktivitesi göstermesinden dolayı, selektif östrojen reseptör modülatörü (SERMs) ailesine aittir. Kadınlarda ve köpeklerde, meme dokusunda anti-östrojen etkisi baskın gözlenirken, uterus üzerinde hücre proliferasyonunu artırıcı etkisi bulunmaktadır (Chang, Kim, Malla, & Kim, 2011; Tavares ve ark., 2010).

### **2.3.3.3. İnflamasyon Faktörleri**

Östrus endokrinolojisine bağlı olarak, östradiol 17 $\beta$ /progesteron oranında meydana gelen değişimler, genital sistem immünolojisini de kontrol etmektedir. Hücrel immunitenin diöstrusun ilk yarısında azalmasının muhtemel sebebi, artan progesteron ve azalan östradiol 17 $\beta$  salınımı olarak belirtilmektedir (Sugiura ve ark., 2004). Uterus ve meme dokusunda meydana gelen patolojilerin insidansı, egzogen progesteron kullanımıyla artar ve bunun sebebi de, endokrinolojik değişimin meydana getirdiği hücrel immunitenin azalması olarak gösterilmektedir. MPA kullanımına bağlı gelişen meme tümörlerinde lokal immün direncin suprese edildiği, bunun sadece progesteronun değil, aynı zamanda yüksek glukokortikoid aktivitenin de rol oynadığı ortaya konmaktadır (Briggs, & Briggs, 1973; Owen, & Briggs, 1976). Öte yandan, östrus döngüsü sırasında steroid hormon konsantrasyonlarındaki değişiklikler, uterus immünitesini etkileyebilir (Aflatoonian ve ark., 2007; Silva ve ark., 2012). Bu sürecin kontrolü prostaglandinler tarafından sağlanmaktadır (Silva ve ark., 2010; Rocca, & FitzGerald, 2002). Çünkü geri dönüşümsüz doku farklılaşma yani tümörlerin, iyileşmeyen yaralar gibi davrandıkları kabul edilmektedir (Dvorak, 1986). Bu bilgilerin dışında, insan ve hayvan modellerinde prostaglandin sentezi seviyeleri ile malignite insidansı arasında doğrudan bir ilişki bildirilmiştir (Badawi, 2000).

#### 2.3.4. Prostaglandin Mekanizması ve Kanser

Prostaglandinler, PLA2 tarafından membran fosfolipidlerinden salınan araşidonik asitten sentezlenen ve eikosanoid ailesine ait 20 karbonlu doymamış yağ asitli moleküllerdir. COX-1 ve COX-2 tarafından PGH<sub>2</sub>'ye metabolize edilmektedir (Simmons, Botting, & Hla, 2004). Prostaglandin G/H sentaz ve/veya siklooksijenaz (COX) etkileriyle metabolize edilirler. *In vivo* 4 farklı biyoaktif prostaglandinlerin sentezlenmesine rağmen, reproduktif alanda PGE<sub>2</sub> ve PGF<sub>2</sub>α biyosentezi önem kazanmaktadır. Tüm prostaglandinler homeostazisi sağlamak üzere çalışan otokrin ve parakrin etki gösterebilen lipid mediatörleridir (Ricciotti, & FitzGerald, 2011)

Prostaglandinler etkilerini, hücre membranında, G-kenetli protein reseptörleri aracılığıyla yedi transmembranı aktive ederek gösterirler. Prostanoid reseptör alt ailesi sekiz üyeden oluşur: PGE reseptörünün EP1, EP2, EP3 ve EP4 alt tipleri, PGD reseptörü (DP1), PGF reseptörü (FP), PGI reseptörü (IP) ve TX reseptör (TP) (Narumiya, & FitzGerald, 2001).

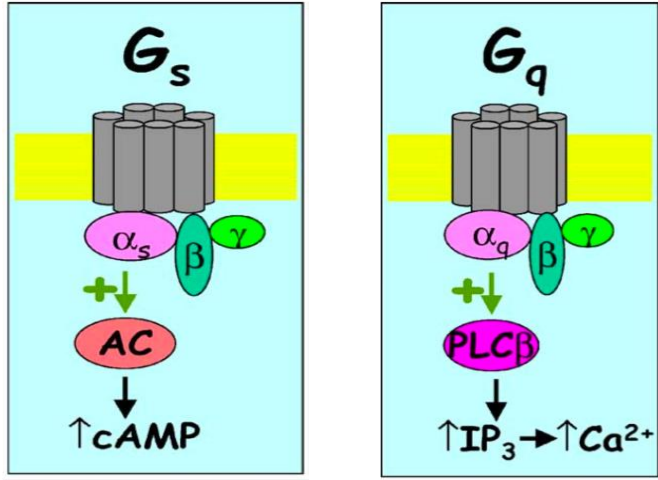
PGE<sub>2</sub>'nin etkinliğini kolaylaştıran çeşitli sinyal yollarına sahip G-protein-bağlı EP (EP1-EP4) bulunmaktadır. EP1, hücre içi Ca<sup>2+</sup>'yı harekete geçirmek için G protein-alfa-q (Gq) ile, EP2 ve EP4 adenilil siklazı (AC) aktive etmek için G protein-alfa stimülatörü ile (Gs), EP3 ise esas olarak AC'yi suprese etmek için G protein alfa inhibitörü (Gi) ile kenetlenmektedir (Sokolowska ve ark., 2015). Ayrıca EP3 reseptörü G12/13 proteinlerine bağlanarak küçük G proteini Rho'nun aktivasyonuna da neden olabilmektedir (O'Callaghan, & Houston, 2015). PGE<sub>2</sub>, reseptörüne bağlandıktan sonra 15-hidroksiprostaglandin dehidrojenaz (15-PGDH) tarafından inaktif bir 15-keto PGE<sub>2</sub>'ye katalize edilebilmektedir (Legler, Bruckner, Uetz-von Allmen, & Krause 2010). EP2, EP4, IP ve DP1 reseptörleri, hücre içi siklik adenosin monofosfatı (cAMP) artırarak Gs kenetli reseptör yoluyla adenilil siklazı aktive eder. G proteinine GDP (Guanozin difosfat) bağlanarak α-alt birimi ayırır ve GDP, GTP'ye (Guanozin-5'-trifosfat) dönüşmektedir. α-alt birime bağlanan GTP, adenilil siklazın aktivasyonunu sağlayarak cAMP'yi artırır ve hücrel cevabı oluşturur (Predescu ve ark., 2019; Wettschureck, & Offermanns, 2005).

EP1 ve FP, Gq kenetli reseptör yoluyla GDP α-alt birimine bağlanarak kompleks yapıdan ayrılır ve GDP, GTP'ye (Guanozin-5'-trifosfat) dönüşmektedir.

Fosfatidilinositol metabolizması yoluyla artan fosfokinaz aktivitesine ilave olarak hücre içi serbest kalsiyumun mobilizasyonu ile inositol trisfosfat aktivasyonuna neden olur (Bridges, & Saltiel, 2015; Ricciotti, & FitzGerald, 2011). Gq aracılığıyla sinyal göndermeye ek olarak, FP reseptörü, Gq'dan bağımsız bir mekanizma yoluyla küçük G-proteini Rho'ya bağlanır (Pierce, Fujino, Srivasan, & Regan, 1999). Prostanoid reseptörlerin sınıf, alt tip, ikincil habercileri ile sinyal iletimi tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1:** Prostanoid Reseptörlerinin Sinyal İletimi (Ricciotti, & FitzGerald, 2011)

Sınıf	Alt tip	G-protein kenetli	İkinci Haberci
TxA <sub>2</sub>	TP <sub>α</sub> , TP <sub>β</sub>	G <sub>q</sub> , G <sub>13</sub> , G <sub>12</sub> , G <sub>s</sub> (TP <sub>α</sub> ), G <sub>i</sub> (TP <sub>β</sub> )	↑ IP <sub>3</sub> /DAG/Ca <sup>2+</sup> , RhoGEF ↑↓ cAMP
PGD <sub>2</sub>	DP	G <sub>s</sub>	↑ cAMP
	CRT2	G <sub>i</sub>	↓ cAMP, ↑ Ca <sup>2+</sup>
PGE <sub>2</sub>	EP1	G <sub>q</sub>	↑ IP <sub>3</sub> /DAG/Ca <sup>2+</sup>
	EP2	G <sub>s</sub>	↑ cAMP
	EP3	G <sub>i</sub> , G <sub>12</sub>	↓ cAMP, ↑ Ca <sup>2+</sup> , Rho
	EP4	G <sub>s</sub>	↑ cAMP
PGI <sub>2</sub>	IP-IP	G <sub>s</sub>	↑ cAMP
	IP-TP <sub>α</sub>	G <sub>s</sub>	↑ cAMP
PGF <sub>2α</sub>	FP <sub>A</sub> , FP <sub>B</sub>	G <sub>q</sub>	↑ IP <sub>3</sub> /DAG/Ca <sup>2+</sup> , Rho



Adenilat siklazı aktive eder  
cAMP üretimini artırır

PLC $\beta$ 'yi etkinleştirir  
Protein Kinaz C aktivitesini artırır  
IP $_3$ 'ü artırır  
Stoplazmik Ca $^{2+}$ ' yı artırır

**Şekil 6:** Farklı G-protein sinyal yollarında yer alan temel mekanizmalar (Greasley, & Jansen, 2005).

Kronik inflamasyon ile kanser gelişimi arasında güçlü bir ilişki olduğu epidemiyolojik çalışmalarla ortaya konmaktadır ve kronik inflamasyonun kanser riskini arttırdığı bildirilmektedir (Kuper, Adami, & Trichopoulos, 2000; Modugno, Ness, Chen, & Weiss, 2005). Kronik enfeksiyonların kansere neden olduğu hastalıklar ve malignite predispozisyonuna olan etki oranları tablo 2'de verilmektedir.

**Tablo 2:** İnflamasyon ve inflamasyon ile ilişkili kanserler (Multhoff, Molls, & Radons, 2012)

Uyarıcı	İnflamasyon	Kanser	Kanser oluşumuna yatkınlık (%)	Kaynak
Sigara kullanımı	Bronşit	Akciğer Kanseri	11-24	(Martey ve ark., 2004)
Helicobacter pylorii	Gastritis	Gastrik Kanser	1-3	(Peek, & Crabtree, 2006)
Human papiilomavirus	Servisit	Serviks Kanseri	<1	(Castle ve ark., 2001)
Hepatitis B ve C virüsü	Hepatitis	Hepatoselluler Karsinoma	10	(Di Bisceglie, 2009)
Bakteri, safra kesesi taşı	Kolesistit	Safra kesesi Kanseri	1-2	(Kanohe ve ark., 2001)
Gram - üropatojenler	Sistit	İdrar kesesi kanseri	<1	(Offersen ve ark., 2002)
Sigara kullanımı, genetik	Pankreatit	Pankreas kanseri	<10	(Garcea, Dennison, Steward, & Berry, 2005)
Gastrik asid, alkol ve sigara kullanımı	Özafagit	Özafagal kanser	15	(Murphy ve ark., 2005)
Ultraviyole ışık	Güneş yanığı	Melanoma	<9	(Berwick ve ark., 2005)
Gut patojenleri	İnflamatuar Bağırsak Hastalığı	Kolorektal Kanser	1	(Vagefi, & Longo, 2005)

Eikosanoidler, hücre zarındaki G-protein reseptörlerine bağlanarak,  $Ca^{2+}$  iyonlarının değişen konsantrasyonları ile cAMP'nin hücresel seviyelerini değiştirerek, hücredeki farklı sinyal yollarını etkiler ve otokrin/parakrin yollar ile hareket eder (Narumiya, Sugimoto, & Ushikubi, 1999). Bu nedenle, eikosanoidler, tümör dokusunda yüksek prostaglandin E2 (PGE2), PGD2 ve tromboksan A2 (TXA2) seviyelerinin yanı sıra düşük PGF2 $\alpha$  ve PGI2 (prostasiklin) seviyelerinin bildirildiği maligniteler de söz konusudur (Pinto ve ark., 1993; Rigas, Goldman, & Levine, 1993; Yang ve ark., 1998). PGF2 $\alpha$  düz kas hücreleri üzerinde etkili olurken, PGD2 sitokinlerin ve kemokinlerin üretimini sağlar (Ushikubi, Sugimoto, Ichikawa, & Narumiya, 2000) ve bunların tümü tümör oluşumuna sebebiyet verebilmektedir (Fulton, Ma, & Kundu, 2006). PGF2 $\alpha$  seviyeleri, farklı tümör tiplerindeki değerleri büyük ölçüde değişiklik gösterir, ancak PGF2 $\alpha$  konsantrasyonları ile sağkalım oranları, metastaz ve nüksetme süresi ve bölgeleri arasında önemli bir ilişki bulunmamaktadır.

COX-2, ağırlıklı olarak inflamatuvar hücrelerde eksprese edilmekte ve kronik/ akut inflamasyonlarda seviyeleri yükselmektedir (Ferrer ve ark., 2019). COX-2 tarafından üretilen PG'ler ise aynı zamanda kanser ilerlemesine ve metastaza katkıda bulunur (Kim ve ark., 2013). COX-2 seviyeleri, inflamatuvar yanıt ile ilişkili olan ve malignite için prognostik bir faktör olarak görülen büyüme faktörleri, sitokinler ve

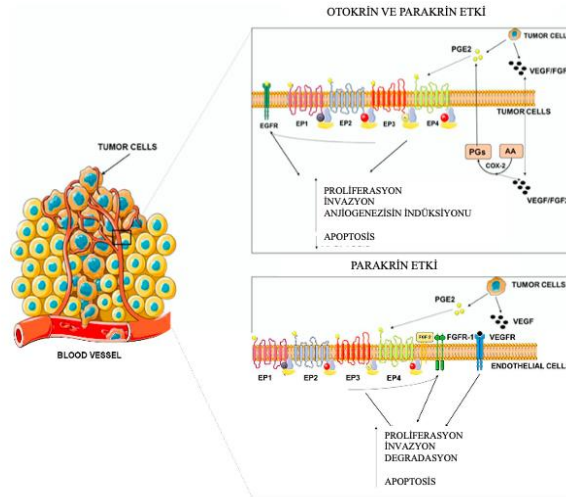
prostaglandinler tarafından uyarılmaktadır (O'Banion, Winn, & Young, 1992; Williams, & DuBois, 1996). Ayrıca, kanser öncesi lezyonlarda COX-2 ve PGE2'nin artan regülasyonu da görülmektedir (Howe, 2007). COX-2 aşırı ekspresyonu, anjiyogenezisi, migrasyonu, invazivliği ve tümör kaynaklı immüno-supresyonu arttırmakta ve aynı zamanda apoptozisi önlemektedir (Ohno ve ark., 2005). Tümör oluşumu ve metastazı, tümör hücrelerinin büyüme bölgesinde anjiyogenezin başlamasına bağlı olarak COX-2 ve PGE2'in, tümör gelişimi sırasında anjiyogenik sürecin düzenlenmesinde güçlü bir rolü vardır (Tablo 3) (Masferrer ve ark., 2000). PGE2'nin, hücre içi sinyal yollarını kullanan dört reseptör alt tipi tanımlanmaktadır (EP1-PTGER1, EP2-PTGER, EP3-PTGER3 ve EP4-PTGER4) (Coleman, Smith, & Narumiya, 1994). Bu reseptörlerin, yüksek konsantrasyonlarda salınan PGE2'nin etkisi üzerinde homeostatik rolleri bulunmaktadır (Ashby, 1998). Bugüne kadar, farklı PGE2 reseptörlerinin rolü, bunların farklı hücre içi sinyal yollarının yanı sıra PGE2'nin normal veya neoplaziye dönüşen endometriyal epitel hücreleri üzerindeki etkilerine aracılık ettiği ortaya konulmaktadır. PGE2 ile çalışan 4 alt reseptörün hücrelerde farklılaşmada önemli rolleri olduğu ve bu sürecin kompleks sinyal transdüksiyonu ile kontrol edildiği belirtilmiştir (Zhu, 2019). Endometriyumun epitel hücreleri, neoplastik dönüşüme karşı oldukça savunmasızdır ve (Gordon, & Ireland, 1994; Mant, & Vessey, 1994) PTGER2 ve PTGER4 ekspresyonu sağlıklı endometriyuma kıyasla endometriyal adenokarsinom dokularında PGE2'ye yanıt olarak seviyeleri önemli ölçüde artar (Jabbour, Milne, Williams, Anderson, & Boddy, 2001). PGE2, PTGER2 reseptörü aracılığıyla büyüme faktörü reseptöründe ve fibroblast büyüme faktörü 2'nin seviyelerinde artışa neden olur (Battersby ve ark., 2007).



**Tablo 3:** Jinekolojik malignitelerde (endometriyal kanser, yumurtalık kanseri ve rahim ağzı kanseri) sinyal veren COX-2-PGE2-EP'lerin ifadesine genel bakış (Ye ve ark., 2020)

Jinekolojik Kanser	Endometrial Kanser	Kaynak
COX-2	Anjiogenezis, Göç, İnvazyon ve immunosupresyon Apoptosiz	(Ohno ve ark., 2005)
PGE2	Proliferasyon ve İnvazyon	(Battersby ve ark., 2007; Ke ve ark., 2016; Sales, Maudsley, & Jabbour, 2004)
PTGES2		(Ke ve ark., 2016)
EP2		(Battersby ve ark., 2007; Jabbour ve ark., 2001; Sales ve ark., 2004)
EP4		(Jabbour ve ark., 2001; Ke ve ark., 2016)

COX-2/PGE2 sinyal mekanizması endometriyal adenokarsinomlarda prostaglandin reseptörlerinin ekspresyonunu arttırmakta ve proinflatuar prostaglandinlerden PGE2 ve PGF $2\alpha$  seviyelerinde artışa neden olmaktadır (Jabbour ve ark., 2001). Bu bulgular sonucunda endometriyal kanserlerin, büyüme faktörlerinin sentezi ve salınımı yoluyla COX-PG sinyali tarafından otokrin / parakrin bir şekilde kontrol edildiğini göstermektedir (Şekil 7) (Sales ve ark., 2009).

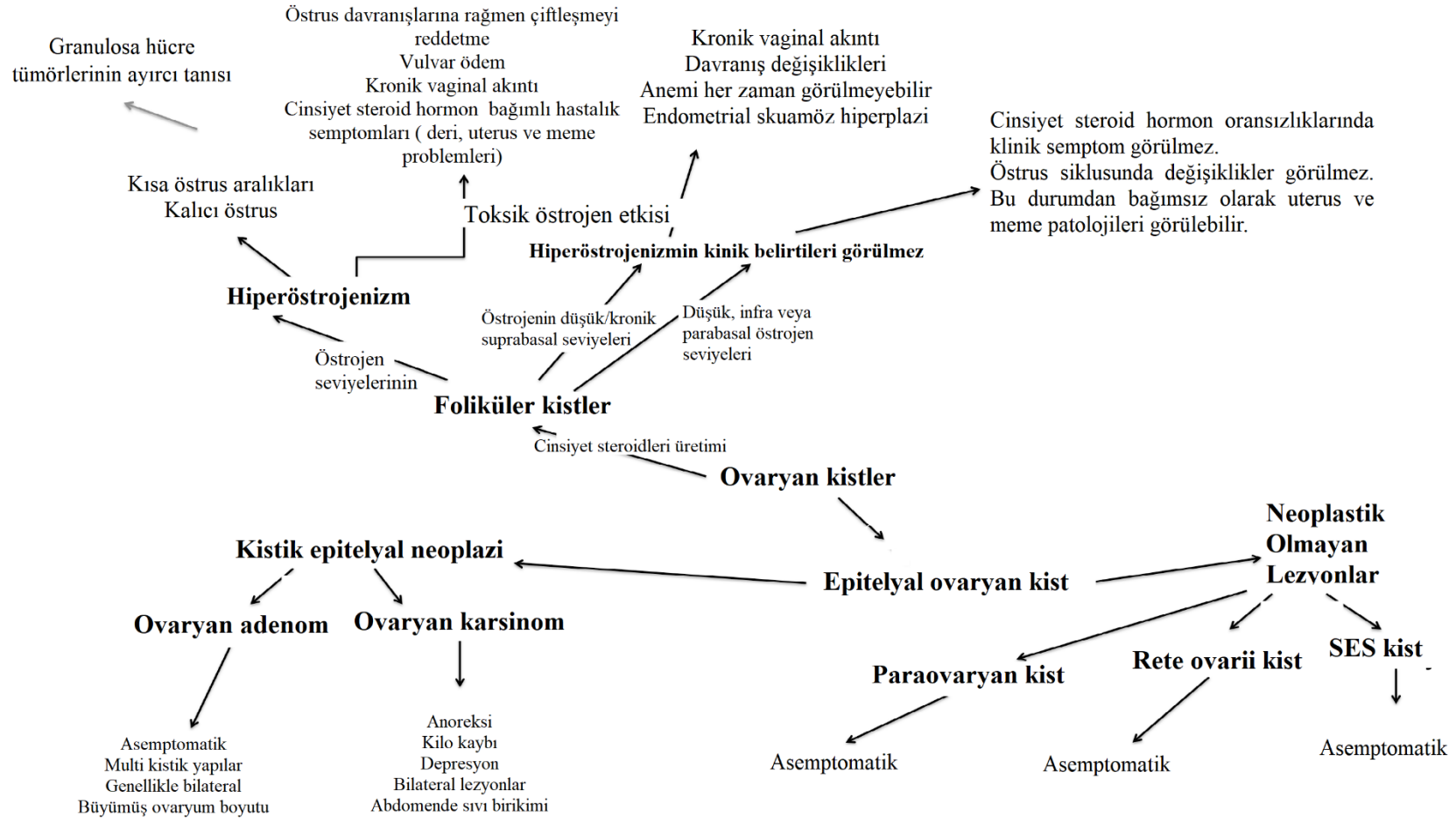


**Şekil 7:** PGE2'nin otokrin ve parakrin etkileri. Tümör hücreleri tarafından salınan PGE2, reseptörlerinin spesifik aktivasyonu veya tirozin kinaz (TK) reseptörü transaktivasyonu yoluyla tümör veya stromal hücreler üzerinde otokrin ve parakrin etkilere neden olabilmektedir. VEGF = vasküler endotel büyüme faktörü, FGF = fibroblast büyüme faktörü, EMT = epitelyal mezenkimal geçiş, ECM = hücre dışı matris. (Finetti ve ark., 2020).

### **2.3.5. Kistik Endometriyal Hiperplazi ile Birlikte Seyreden Hastalıklar ve Tedavi Protokolleri**

#### **2.3.5.1. Ovaryum Kistleri**

Ovaryum içinde ve çevresinde gelişen farklı kist türleri bulunmaktadır (Akihara ve ark., 2007; McEntee, 1990; Schlafer, & Miller, 2007). Bunlar, genellikle foliküler faz sırasında ortaya çıkan ve uzun süre ovaryumlarda varlığını sürdüren, orta büyüklükteki antral anovulatorik foliküllerden köken alan foliküler kistler, mezonefrik tübüllerden (rete ovarii ve paraovaryan kistlerden gelen kistler) köken alan foliküler olmayan kistler ve yüzey epitelinden (ovaryum adenomuna dönüşebilen) köken alan kistlerdir (Payan-Carreira, & Pires, 2016). Bu kistler, cinsiyet steroid hormonları üreten ve üretmeyenler olarak sınıflandırılır (Şekil 8).



Şekil 8: Köpeklerde ovaryum kistlerinin teşhis haritası (Payan-Carreira, & Pires, 2016)

Epitelyal ovaryan kistler grubunda, non-neoplastik lezyonlar ve kistik epitelyal lezyonlar yer alır. Bu kistler çoğunlukla asemptomatiktir ve steroid hormon üretimine katılmazlar. Steroid hormon üretimine katılan foliküler kistler, hiperöstrojenizm ve non-hiperöstrojenizm bulguları gösterenler olarak sınıflandırılmaktadır. Hiperöstrojenizm, yüksek östradiol 17 $\beta$  konsantrasyonu ile seyrederek ve uterusu farklılaşmaya neden olur. Non-hiperöstrojenizm düşük konsantrasyonda östradiol 17 $\beta$  salınımıyla seyretse de, uterus ve memede farklılaşmalara neden olabilecek patolojilere, ‘toksik östrojenik etki’ler ile yol açabildiği belirtilmektedir. Diğer yandan yine düşük östradiol 17 $\beta$  ile seyreden ve uterus ve meme dokusunda patolojik değişimlere yol açmayan non-hiperöstrojenizm formu da mevcuttur (Payan-Carreira, & Pires, 2016) (Şekil 8).

Foliküler kistler, köpek ovaryumlarında gelişen, hormonal olarak aktif yapılardır. Köpeklerde foliküler kistlerin patogenezi bilinmemesine rağmen, kisti çevreleyen granuloza hücreleri yüksek konsantrasyonda östradiol 17 $\beta$  salgılamaktadır (Kim ve ark., 2008). Genellikle ovulasyonu başaramayan, ancak atrezi uyarısına da yanıt veremeyen büyük antral foliküller olarak tanımlanmakta ve bu nedenle normal bir folikülden daha büyük olan graaf foliküllerine benzemektedir (MacLachlan, 1987; Ortega-Pacheco, Gutiérrez-Blanco, & Jiménez-Coello, 2012). Östrus siklusunun uzun ve tekrarlayan progesteron baskınlığı sebebiyle, orta yaşlı ve yaşlı köpeklerde ortaya çıkan foliküler kistler, uterus hastalıklarının aynı zamanda ovaryumda bulunan diğer kistlerin prevalansını artırır (Concannon, 2011; Dow, 1960; Pires, & Payan-Carreira, 2014; Schlafer, & Miller, 2007). Gebelik ve doğumun ise ovaryan kistik yapılar için koruyucu rolü olmadığı ortaya konmaktadır. Bu kistler, kistin tipinden bağımsız olarak (epitelyal ve foliküler veya neoplazik ve non-neoplazik kistler) hem nullipar hem de multipar köpeklerde de gelişebilmektedir (Payan-Carreira, & Pires, 2016).

Nadiren de olsa, kistlerin östrojen üretimi, progesteronu baskılayacak düzeye ulaşmadığı durumlarda siklusun bozulmadığı ve herhangi bir klinik semptom görülmediği de bildirilir. Ancak östradiol üretimi progesteron konsantrasyonunu aşarsa, hedef dokulardaki östrojen ve progesterondaki değişiklikler, özellikle uterus hastalıklarına sebebiyet verir. Daha az sıklıkla, düşük östrojen seviyelerinin uzun süreli etkisi ile kronik endometritis de gelişebilmektedir (Schlafer, & Miller, 2007). Tedavideki amaç foliküler kistlerin diöstrus evresinin sonunda gerileyebilmesi için

luteinize edilmesine dayanır. Bunun için GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) veya hCG (Human Chorionic Gonadotropin Hormone) uygulamaları yapılabilmektedir. Ancak bu tedavilerin başarısının sınırlı olması ve aynı zamanda nükslerin gerçekleşmesi sebebiyle kesin tedavi yöntemi olarak ovariyohisterektomi (OHE) önerilmektedir (Johnston ve ark., 2001).

CEH'nin etiolojisinde anormal endokrinolojik değişimlerin önemli olduğu bildirildiğinden, ovaryum kistlerinin CEH ile birlikte seyrettiği vakalar da bildirilmiştir (Sasidharan ve ark., 2021).

### **2.3.5.2. Ovaryum Tümörleri**

Köpeklerde epitelyal, germinal ve stromal ovaryum tümörlerine rastlanmaktadır. Epitelyal ovaryum tümörlerinin insidansı yüksek olmasına rağmen, daha az sıklıkla görülen stromal orjinli granuloza hücre tümörlerinin (GCT), reproduktif sisteme olumsuz etkileri, diğer tümör tiplerine göre daha şiddetlidir (Meuten, 2003; Patnaik, & Greenlee, 1987). GCT'nin östradiol 17 $\beta$ , progesteron ve  $\alpha$ -inhibin üretebilmesinden dolayı, köpeklerde endometriyal squamoz metaplazi ve myometriyal düz kas hipertrofisi ya da hiperplazisine neden olduğu bildirilmektedir (McCandlish, Munro, Breeze, & Nash, 1979; Zanghi, & Gimbo 1998). Endometriyal ve myometriyal hormon cevabı, progesteron ve östrojen reseptörleriyle belirtildiğinden, bu durumun CEH olgularına neden olduğu açıklanmaktadır (Dhaliwal ve ark., 1999; Vermeirsch ve ark., 1999; Vermeirsch ve ark., 2000a).

Yüksek hormon konsantrasyonu, uterus bezlerinin proliferasyonu ve myometriyuma penetrasyonu sonucunda, uterin adenomiyozları da oluşturabilmektedir (Stöcklin-Gautschi ve ark., 2001; Zanghi, Catone, Marino, Quartuccio, & Nicotina, 2007). Uterin adenomiyozları nadir olarak görülse de genellikle endometritis, pyometra veya CEH ile birlikte seyreder (Kim, Kang, Zhang, & Kang, 2010).

Medikal tedavi, hastalığın prognozunun bilinmemesi açısından önerilmemek ile birlikte, birçok araştırmacı OHE operasyonunu hem ovaryum tümörleri hem de sonrasında gelişebilecek pyometranın oluşumunu önlemesi açısından uygun görmektedir (Nielsen, Misdorp, & McEntee, 1976).

### 2.3.5.3. Pyometra

Pyometra, CEH ile ilişkili, sistemik belirtilerle seyreden ve en sık görülen diöstrus dönemi patolojisidir (Fransson, 2003a). Anormal endokrinolojik değişikliklerden kaynaklanan ve kistik endometriyal hiperplazinin bir sekeli olarak kabul edilen pyometra, uterusu purulent sıvıların birikmesine neden olan patolojik bir durumdur (Kumar, & Saxena, 2018). Bazı araştırmacılar, subakut endometritisin CEH'ye sebebiyet vermesi nedeniyle, hastalığın CEH-pyometra kompleksi olarak sınıflandırılması gerektiğini öne sürmektedir (Sandholm, Vasenius, & Kivisto, 1975). Köpeklerde pyometra, serviksin durumuna göre açık serviks veya kapalı serviks olarak kategorize edilebilmekte ancak kapalı serviks pyometraya eşlik eden sepsis, genel durumu bozarak ölüme sebebiyet verebilmektedir (Smith, 2006).

Luteal dönemde, kan progesteron konsantrasyonunun yükselmesi, endometriyal bezlerin büyümesi ve salgıların artmasına, myometriyal kontraksiyonun azalmasına ve serviksin kapanmasına yol açmakta böylece hastalığın oluşumunu kolaylaştırmaktadır (Hardie, 1995). Pyometralı köpek endometriyumunda 3 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrojenaz (3 $\beta$ -HSD) ekspresyonunun arttığının belirlenmesi, normal dönemde olsa bile lokal progesteronun üretimini, hastalık oluşumu üzerindeki etkisinin var olduğunu ortaya koymaktadır (Gultiken, Yarim, Yarim, Gacar, & Mason, 2016). Bu nedenle, luteal fazda progesteron baskınlığına bağlı olarak, azalmış hücrel bağışıklık ve bastırılmış lokal bağışıklık ile birlikte kolonizasyonlara yol açan patojenler için elverişli uterus ortamı sağlanmaktadır (Sugiura ve ark., 2004; Kumar, & Saxena, 2018). Bakteriyel orijine sahip pyometrada en yaygın izole edilen bakteri *E. Coli*'dir (Bondade, Nema, & Shukla, 2010; Hagman, 2004). *E. coli*'nin virülans faktörü olan K antijeni ve sitotoksin nekrotizan faktörler patolojinin ortaya çıkmasında etkin role sahiptir, bununla birlikte, Klebsiella spp., Streptococci, Staphylococci ve anaerobik bakteriler pyometrada izole edilen bakteriler arasındadır (Dhaliwal, Wray, & Noakes, 1998). Pyometranın klinik belirtileri arasında endotoksemi, septik şok, peritonitis ve çoklu organ yetmezliği bulunur (Kumar, & Saxena, 2018). Biyokimyasal analizlerde, BUN (Kan Üre Nitrojen), kreatinin, ALT (Alanin Amino Transferaz), AST (Aspartat Amino Transferaz), ALP (Alkalen Fosfataz) ve globulinde önemli artışlar gerçekleşmekte; ancak albümin seviyesi büyük ölçüde azalmaktadır ve meydana gelen hipoalbüminemi ile hiperglobulinemi, akut faz reaksiyonları ve

dehidrasyondan kaynaklanmaktadır. Endotoksinin etkisiyle doku tahribatı gerçekleşmekte ve bu durum BUN ile kreatinin düzeylerinde yükselmeler meydana getirmektedir (Jitpean ve ark., 2014; Patil, Swamy, Chandra, & Jawre, 2013; Shah ve ark., 2017). Hematolojik değerlendirmede, toksemi sebebiyle hemoglobin, hemotokrit, toplam eritrosit sayısı ve trombosit seviyelerinin düşmesinin yanı sıra, eritrosit sedimentasyon hızı, toplam lökosit sayısı ve polimorfonükleer hücrelerde artış görülmektedir (Gupta, & Dhama, 2013a; Patil ve ark., 2013). Azalan lökositler ve lenfositler, toksemiden iyileşme yönüne geçildiğine işaret eder. Bu nedenle, bu değişen hematolojik değerler, köpek pyometrasının teşhisine ve prognozuna yardımcı olarak kullanılır (Mohan, Subramanian, & Nambi, 2015). Kapalı serviks pyometrasından etkilenen dişi köpeklerde en sık görülen bulgu, sola kayma ile birlikte lökosit artışıdır (Nath, Tiwari, & Kalim, 2009). Anemi, toksemiye bağlı kemik iliğinde eritropoez baskılanması ile birlikte uterus lümeninde eritrosit diapedezinin sekeli olarak ortaya çıkmakta (Nath ve ark., 2009), bunun ile birlikte antijen-antikor kompleksinin glomerulusta birikmesi nedeniyle oluşan glomerülonefrit görülmektedir (Pretzer, 2008b).

Ultrasonografik görüntüleme, gelişmiş tanı teknikleri arasında uterusun ekojenik sıvı içeren genişlemiş ve hipoekoik tübüler organ olarak görüldüğü en iyi tanı araçlarından biridir (Gupta, Dhama, Patil, Kumar, & Darr, 2013b)

Medikal tedavi olarak, sistemik tedavi amaçlanmaktadır. Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) (Myhre, 2016), kabergolin ve kloprostenol kombinasyonu, mifepriston (Hoffman, & Schuler, 2000) veya aglepriston (Arnold ve ark., 2006; Wehrend ve ark., 2003) gibi progesteron reseptör blokörlerinin kullanımı tedavi seçenekleri arasındadır. Aglepristonun antibiyotik kombinasyonlarıyla kullanımının etkin bir rol sağlandığı ortaya konulmaktadır. Bu tedavilere ek olarak sıvı sağaltımı ve semptomatik olarak ilaç kullanımı da tedaviye dâhil edilir (Contri, Gloria, Carluccio, Pantaleo, & Robbe, 2015).

### 2.3.6. Çalışmanın Amacı ve Hipotezleri

Genel bilgilerde detayları verilen ve köpeklerde sıklıkla karşılaşılan CEH-P kompleksinin birlikte değerlendirmek yerine, her bir patolojinin ayrı değerlendirilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu kompleks hastalığın tedavisinde sıklıkla aglepriston kullanılmaktadır. Ancak bu progesteron reseptör blokörü sadece pyometranın tedavisine destek olduğu bilinmektedir.

Kadınlarda gözlenen endometriyal hiperplazi ve kanserlerinin etiyolojisinde kronik inflamasyon, enfeksiyon ve steroid hormonların rolünün büyük olduğu bilinmektedir. Ayrıca kadınlarda, malignitenin ve prostaglandin senteziyle yakın ilişkisi de bildirilmiştir. Bu verilere dayanarak, köpeklerde kistik endometriyal hiperplazide prostaglandin sentezini kodlayan genlerin muhtemel transkripsiyon motifi çalışılmıştır. İnsanlarda endometriyal hiperplazinin endometriyal karsinoma için prekürsör olduğu bilinmektedir. Köpeklerde CEH'nin malign karakterde bir patoloji olmadığı kabul edilse de, köpek endometriyal karsinoma ve CEH'in birlikte bildirildiği vakalar bulunmaktadır. Bu bilgiler ışığında çalışmanın amaçları ve hipotezleri aşağıdaki gibi oluşturulmuştur:

CEH-P kompleksinde, bir progesteron reseptör antagonisti olan aglepriston kullanımının, medikal tedavideki etkisi/rolü nedir? Yangı mekanizmasındaki ekspresyonel değişimler, endokrinolojik değişimden etkilenmekte midir?

Enfeksiyonun eşlik etmediği kistik endometriyal hiperplazi, köpeklerde malign kabul edilebilir mi?



### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Hastaların Seçimi ve Tedavi Protokolü

Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Doğum ve Jinekoloji Kliniği'ne, vaginal akıntı ve/veya iştahsızlık şikâyeti ile getirilen ileri yaşlı 20 adet köpek çalışmada kullanıldı. Genel klinik muayene bulguları (vücut sıcaklığı, muköz membranların durumu ve abdominal palpasyon bulguları), gıda alımı (iştah durumu ve polidipsi), ürinyasyon ve defekasyon (poliüri) verileri raporlandı. Tüm hastalara, laboratuvar analizleri (hematoloji ve biyokimyasal) ve transabdominal ultrason muayenesi (Mindray DC-N2, Çin/7.5 Mhz ) yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre CEH-P tanısı alan hastalar çalışmaya dâhil edildi. Çalışmanın etik kurul onay izni (HADYEK NO: 2019-09/01), Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun, 15.10.2019 tarihli toplantısında alındı. Tüm hasta sahipleri konuyla ilgili bilgilendirilmiş olup, hastaların çalışmaya dâhil edilebilmesi için '**gönüllü onam formu**' imzalatıldı.

Çalışmada kullanılan köpekler, 4 gruba ayrıldı. Her grupta 5'er hasta olacak şekilde planlama yapıldıktan sonra, aşağıda detayları verilen tedavi protokolleri uygulandı. Ayrıca, kontrol grupları olarak, diöstrus döneminde, sağlıklı 5 adet uterus ve yine 5 adet ileri yaşlı, enfeksiyonsuz CEH'li uterusu sahip köpekler çalışmaya dâhil edildi. Bu grubun köpekleri için HADYEK'e yapılan başvuru 08.09.2020 tarihinde onaylandı.

Onayın alınmasından sonra tüm çalışma için kullanılan köpek sayısı 30'a ulaştı ve köpekler aşağıda belirlenen gruplara ayrıldı. Gruplama esnasında hastaların son proöstrus kanama zamanları ve anamnez bilgileri dğerlendirilerek, tüm köepklerin gruplarda aynı siklus döneminde olmalarına dikkat edildi (Veiga ve ark., 2017). Aynı zamanda vaginal sitoloji ve operasyon esnasında korpus luteum (CL) varlığı da dikkate alındı.

**CEH-P-1.Grup (n=5):** Sıvı sağaltımı + antimikrobiyal terapi (Seftiriakson 15mg/kg + Metronidazol 20 mg/kg) + Aglepriston (Alizin®) (1.ve 2. günlerde deri altı 10 mg/kg) + cerrahi girişim (OHE)

**CEH-P-2.Grup (n=5):** Sıvı sağaltımı + antimikrobiyal terapi (Seftiriakson 15mg/kg + Metronidazol 20 mg/kg) + Aglepriston (Alizin®) (1.2. ve 7. günlerde deri altı 10 mg/kg) + cerrahi girişim (OHE)

**CEH-P-3.Grup (n=5):** Sıvı sağaltımı + antimikrobiyal terapi (Seftiriakson 15mg/kg + Metronidazol 20 mg/kg) + Aglepriston (Alizin®) (1.2.7. ve 14. günlerde deri altı 10 mg/kg) + cerrahi girişim (OHE)

**CEH-P-4.Grup (n=5):** Pozitif kontrol grubu, cerrahi girişim (OHE)

**NK-5.Grup (n=5):** Negatif kontrol grubu, sağlıklı ve diöstrus dönemi, cerrahi girişim (OHE)

**CEH-6.Grup (n=5):** Negatif kontrol grubu, rutin OHE operasyonunda belirlenen enfeksiyonsuz CEH, cerrahi girişim (OHE)

### **3.2. Operasyonlar**

Ovaryohistektomi uygulaması için, hastalara preanestezik ajan olarak Xylazine HCl (1-2 mg/kg, i.m., Vetaxyl® % 2) uygulandı. Anestezi indüksiyonu için, Ketamine HCl (5-10 mg/kg, i.m., Keta-Control® % 10) enjeksiyonu sonrasında, operasyon bölgesinin dezenfeksiyonu tamamlandı. Göbek skatriksinin yaklaşık 2-3 cm altından, kaudal yönde 5-7 cm'lik dikey bir ensizyonla deri, deri altı dokular ayrılarak abdomene ulaşıldı. Ovaryum ve kornu uteriye ulaşıldıktan sonra, emilebilir 1 numara iplikle (PGA, MITSU, Meril Endo Surgery Private Ltd, Hindistan) gerekli ligatürler konularak organlar uzaklaştırıldı. Yine 1 numara emilebilir iplik ile periton ve kaslar X dikişi ile kapatıldı ve 1 numara ipek iplik (SILK, Jihuan Medical Products Ltd, Çin) ile deriye yatay U dikişi konularak operasyonlar tamamlandı.

### **3.3. Dokuların Korunması ve Saklanması**

Operasyon sonrası alınan uterus örnekleri, 1xPBS solüsyonunda yıkandıktan sonra 2x1x2 boyutlarında kesildi. Bu dokular +4 °C'de, 24 saat boyunca 10% tamponlanmış formaldehit solüsyonunda fikse edildikten sonra, 1xPBS tampon solüsyonunda yıkandı. Daha sonra dereceli alkol serisinden geçirilerek (sırasıyla %30, %50, %70, %90 ve %100) ksilolde bekletilen dokular, parafine gömülerek +4 °C'de saklandı. Kistik yapıların olduğu kalan doku parçaları ise, sıvı azot (-196 °C) içine

atılarak şok dondurma yapıldı ve alüminyum folyolara sarılarak çalışmaya kadar -80 °C’de saklandı.

### 3.4. Histopatolojik Muayeneler

Olgulara ait parafin bloklardan uygun olanlar seçilerek, mikrotom cihazında (Leica, RM2155, Almanya), 5 µm kalınlığında kesildikten sonra, Hematoxilen-Eosin (HE) (Merck, Almanya) ile boyandı ve ışık mikroskopunda (Olympus CX41, Japonya) incelendi. Histopatoloji incelemede, CEH-P ve CEH tanısı iki farklı patolog konuldu. Grupların sınıflandırılması, Dow'un morfoloji kriterlerine, histolojik lezyonlara ve De Bosschere'nin histomorfolojik sınıflandırması kriterlerine göre yapıldı (De Bosschere ve ark., 2001; Dow, 1959; Munson, Gardner, Masson, Chassy, & Seal, 2002) (Tablo 4). Kontrol grubu ve CEH gruplarının makroskopik veya histopatolojik incelemelerinde irin ve/veya mukus gözlenmemişken, bu gruplarda yapılan histopatolojik incelemelerde nötrofil lökositler dâhil inflamasyon bulgusuna rastlanmamıştır.

**Tablo 4:** Grupların sınıflandırılması

Gruplar	Dow'un CEH Tipleri Sınıflandırması *	Endometriyal Hiperplazi İndeksi **	De Bosschere'nin Histomorfolojik Sınıflandırması***
CEH-Pyometra (CEH-P) Grubu (n=5; ortalama yaş 5.4±2.3 yıl)	Tip IV Abdominal distansiyonun şiddetli klinik belirtileri, anormal kan hematolojisi ve biyokimyası ile diğer abdominal organlarda hasar	3. derece Norma lin <2 katı artmış endometrial kalınlık ile şiddetli hiperplastik ve kistik değişiklikler	Pyometra (hiperplastik)
(CEH) Grubu (n=5; yaş ortalaması 8.8±0.83)	Tip I inflamatuvar süreç olmadan CEH belirtileri gösteren ve hiçbir klinik bulgusu olmayan	2. derece Normalin <2 katı artmış endometriyal kalınlık ile hiperplastik ve kistik değişiklik	Şiddetli CEH
Kontrol Grubu (n=5; yaş ortalaması 3.0±0.70)	-	0. derece Uterus anormallikleri ve hiperplastik değişiklikler yok	Normal

\*\* Munson ve ark.'na (2002) göre endometriyal hiperplazi indeksi ve \*\*\* De Bosschere ve ark.'a (2001) göre histomorfolojik sınıflandırma \* Dow'a (1959) göre CEH tipleri sınıflandırılması

### **3.5. Real-Time PCR Çalışması**

#### **3.5.1. mRNA İzolasyonu**

##### **3.5.1.1. Trizol ile mRNA İzolasyonu**

Çalışma alanı önce distile su, sonra alkol ile temizlendi. Bir buçuk mililitrelik steril eppendorf tüpler içine, doku hücre membranını parçalama amacıyla 1000 µl Trizol (TRIZOL Reagent Invitrogen, Carlsbad, ABD) konuldu. Diğer taraftan -80 °C’de saklanan dokular, sıvı azot eklenmiş havan ve havaneli yardımı ile parçalara ayrılarak ezildi. Önceden hazırlanan ve içinde Trizol bulunan eppendorf tüplere, küçük uçlu spatül yardımı ile yaklaşık 200 mg toz haline gelmiş doku eklendi. Hafif çalkalama işlemi yapıldıktan sonra, oda ısısında 10 dakika beklemeye bırakıldı. Parçalayıcı (Ultraturrax, IKA-T10®, Almanya) yardımıyla eppendorf içindeki doku, 3-4 saniye homojenize edildi.

Homojenizasyondan sonra eppendorf tüplere, -20 °C’de muhafaza edilmiş 200 µl kloroform (Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD) eklendi. Hafifçe çalkalandıktan sonra, oda ısısında 5 dakika bekletildi. Eppendorf tüpler 14000 rpm’de 15 dakika santrifüj (Hettich Universal 320 R, Almanya) edildi. Santrifüj sonunda faz ayrımı gerçekleşen eppendorf tüplerden, üstteki aköz kısım (450-500 µl) dikkatlice alınıp steril eppendorflara kondu. Tüplerin içine yine aynı miktarda 450-500 µl izopropil alkol (Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD) eklendi. İzopropil alkolün de -20 °C’de muhafaza edilmesine dikkat edildi. Tüpler hafifçe çalkalanarak 30 dakika boyunca -20 °C’de inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 14000 rpm’de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüjden alınan tüplerde pelet varlığı kontrol edilerek tüpün içindeki sıvı kontrollü bir şekilde atılarak içinde sıvı kalmaması sağlandı. Tüplere 500 µl, yine -20 °C’de muhafaza edilen % 70 etil alkol konularak, oda ısısında 10 dakika inkübe edildi ve 14000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Tüpün içinde var olan etil alkol dikkatlice uzaklaştırılarak, kapakları açık bir şekilde önceden ısıtılmış 37 °C’lik kurutma kabininde, 10-15 dakika kurumaya bırakıldı. Kurumuş olan peletlerin üzerine 50 µl

otoklavmış distile su eklendi ve 10 dakika boyunca 60 °C'lik su banyosunda bekletildi. Tüpler 5-10 saniye vorteksledi ve 10 saniyelik kısa santrifüj işlemi sonra, üzerlerine 1,25 µl RNAaz inhibitörü (Applied Biosystems, ABD) eklenerek, tekrar vorteks ve kısa santrifüj işlemleri yapıldı. RNA'lar çalışma yapılana kadar -80 °C'de saklandı.

### **3.5.1.2. Kit Kullanımı ile mRNA İzolasyonu (innuPREP Micro RNA Kit, Analytic Jena)**

Çalışma alanını önce distile su sonra alkol ile temizlendi. Dokular sıvı azot içinde parçalara ayrılarak, toz haline getirildi. Küçük spatül yardımı ile ependorf tüpüne toz haline getirilmiş doku örnekleri (100 mg) eklendi. Tüplerin üzerine 600 µl parçalama solüsyonu (Lysis buffer) konularak hafifçe çalkalandı ve 5 dakika oda ısısında bekletildi. Sonrasında ise 5 dakika boyunca vorteks yapılarak parçalanma tamamlandı. Elde edilen karışım mavi filtreli tüpe aktarılarak, 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Toplayıcı tüpün içine filtre edilen kısma (filtrenin altında kalan) % 70 etil alkol'den 600 µl eklenerek pipetaj yapıldı ve RNA'nın filtrelenmesi amacıyla pembe filtreli tüplere aktarıldı. Tüpler 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Toplayıcı tüpte biriken alkol atılarak filtre üzerine 500 µl HS solüsyonu eklendi ve 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Yine toplayıcı tüpteki HS solüsyonu atılarak, filtre üzerine 750 µl LS solüsyonu eklendi ve 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Filtrede kalan alkolün tamamen uzaklaştırılması için tüp 12000 rpm'de 3 dakika boş santrifüj edildi. Yeni ependorf tüpü hazırlandı ve santrifüj sonrası pembe filtre eppendorfa yerleştirilerek 25 µl elüsyon buffer eklendi. Bir dakika oda ısısında bekletildi ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Elüsyon aşaması bir kez daha tekrar edilerek toplamda 50 µl RNA elde edildi. Tüm mRNA izolasyon aşamalarında innuPREP RNA Mini Kit (Analytik Jena, Almanya) kullanıldı.

### **3.5.2. mRNA Kalite ve Konsantrasyonlarının Belirlenmesi**

İzole mRNA'ların saflık (Purity control) ve konsantrasyonlarının belirlenmesi için 1 µl mRNA kullanarak spektrofotometrik ölçüm yapıldı. Konsantrasyonlar ve absorbans değerleri 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçüldü (NanoDrop 2000c, Thermo Scientific, ABD). İdeal saflıktaki, kaliteli mRNA'nın A260/A280 absorbans

oranının 1.8-2.0 olması gerektiğinden, çalışma için bu aralıkta elde edilen mRNA'lar kullanıldı.

RNA bütünlüğünün kontrolü (Integrity control) agaroz jel elektroforezi kullanılarak yapıldı. Agaroz (1.82 gr, Prona Agarose Basicale, Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD), 1xTAE buffer (91 ml), 560W'lik mikrodalgada 2 dakika boyunca eritildi. Üzerine 1,9 µl ethidium bromide katılarak jel tankına (Owl EASYCAST™ B, Thermo Fischer Scientific, Waltman, USA) döküldü. Yarım saatlik polimerizasyondan sonra, 3 µl RNA, 9 µl elektroforez boyası (DNA Gel Loading Dye, Thermo Fischer Scientific, Waltman, USA) ile karıştırılarak jele yüklendi. Örnekler % 2'lik agaroz jelde, 100V ve 300 mA güç kaynağında (PowerPac® Basic Power Supply, Bio-Rad, Avusturya) 40 dakika boyunca yürütülerek transilluminatörde (UVITEC, İngiltere) görüntülendi.

### 3.5.3. cDNA Sentezi

cDNA sentezi, RevertAid RT Reverse Transcription Kit (Thermo Fischer Scientific, Waltman, USA) kullanılarak gerçekleştirildi. Her örnek için hesaplanan miktarlarda RNA örnekleri ve nükleaz-free su kullanılarak, toplamda 11'er µl olan karışıma, 1 µl Random Hexamer eklendi. Hazırlanan 12 µl'lik karışım, PCR cihazında 65 °C' de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Yapılan inkübasyonun ardından buz üzerinde soğutuldu.

Son hacim 20 µl olacak şekilde aşağıda belirtilen reaksiyon bileşenleri, RNA örnekleri üzerine eklenerek 0.2 ml'lik PCR tüplerinde pipetlendi.

RNA örneği	12 µl
5X Reaction Buffer	4 µl
RiboLock RNase İnhibitor (20 U/L)	1 µl
10 mM dNTP Mix	2 µl
RevertAid RT (200 U/L)	1 µl
<b>Toplam Hacim</b>	<b>20 µl</b>

Thermal Cycler'a yerleştirilen karışım tüpleri, 25 °C de 5 dakika, 42 °C de 60 dakika ve 70 °C de ise 5 dakika inkübasyon olmak üzere cDNA'ya çevrilme protokolü kullanıldı. Elde edilen cDNA'lar, Real Time PCR için hazır olup -20 °C'de saklandı.

### 3.5.4. Real-Time PCR (qPCR)

Sentezlenen cDNA'dan 2.5 µl kullanılarak, aşağıda protokolü verilen ve tek bir reaksiyon için hazırlanan 7.5 µl'lik karışımı ile pipetlendikten sonra, pleytler LightCycler® 480 SYBR Green I Master kullanılarak Roche LightCycler 480 II'na yerleştirildi.

#### **Reaksiyon Karışımı:**

<b>Bileşenler (Tek Reaksiyon İçin)</b>	<b>Hacim</b>
PCR-grade, water	1.9 µl
Forward Primer(F) (ara stok 10 µM)	0.3 µl
Reverse Primer(R) (ara stok 10 µM)	0.3 µl
Enzim Karışımı (LightCycler® 480 SYBR Green I Master)	5 µl
cDNA	2.5 µl
<b>TOPLAM REAKSİYON HACİM</b>	<b>10 µl</b>

**7.5 µl Reaksiyon Mix + 2.5 µl cDNA = 10 µl Total Reaksiyon Hacmi**

Hazırlanan pleytlerin üzeri kapatılarak, plate santrifüj cihazı ile santrifüj edildi. Aşağıda belirtilen cihaz protokolü ile çalışma yapıldı.

#### **Cihaz Protokolü**

<b>Program Adı</b>	<b>Pre-İnkübasyon</b>	<b>Amplifikasyon</b>				<b>Melting Curve</b>			<b>Soğutma</b>
<b>Analiz Modu</b>	Yok	Kuantifikasyon Modu				Erime Eğrisi Modu			Yok
<b>Döngü Sayısı</b>	1	45				1			1
<b>Hedef Sıcaklık [°C]</b>	95	95	57	72	95	62	97	40	
<b>Süre</b>	5 dakika	10 sn	10 sn	10 sn	5 sn	1 dk	0 dk	30 sn	

Real Time PCR analizi sonunda elde edilen veriler Roche LightCycler480 yazılımı kullanılarak Absolute Quantification ile analiz edilmiş ve her bir örnek için hedef (target) genlerde normalize değerler hesaplandı.

### 3.5.5. Primer Dizaynı

Çalışmada belirtilen GAPDH ve ACT- $\beta$  genleri referans (kontrol) gen olarak alınmıştır. PTGS2, PTGES, PTGER2, PTGER4, PGFS, PTGFR, PGR ve GAPDH, ACT- $\beta$  gen bölgeleri için kullanılan primeler, NCBI ve ENSEMBLE gen bankaları kullanılarak Canine spesifik olarak dizayn edildi (Tablo 5). Elde edilen primerlerin spesifikliği, BLAST programı ile kontrol edildi.

**Tablo 5:** Çalışmada kullanılan genlere ait primer dizleri

Gen İsmi	Gen ID	Primer Adı	Primer Dizisi (5'→3')
PTGS2 (COX-II)	442942	Foward	CTGTACCCGAACAGGATTCTAC
		Reverse	CCCTTGAAGTGGGTAAGTATGT
PTGES	480698	Foward	CAAGTGAGGCTTCGGAAGAA
		Reverse	GAGGCAGCGATCCACATC
PTGER2	403797	Foward	CACCTCATTCTCCTGGCTATT
		Reverse	GAGCTTGGAGGTCCCATTT
PTGER4	403589	Foward	CAGATGGTCATCCTGCTCAT
		Reverse	TTCACCAAACGTGGCTGATA
PGFS	497070	Foward	GGACATCATCCTGACTGCATAC
		Reverse	CATTGAGAACTGGGTCCTTCAG
PTGFR	479981	Foward	GCATTTGCTGGAGTCCATTTT
		Reverse	TTTGATTCACGTTGCCATTC
PGR	403621	Foward	TACCAGCCGTACCTCAACTA
		Reverse	GACACCATAATGACAGCCTGAT
GAPDH	403755	Foward	GAACATCATCCCTGCTTCCA
		Reverse	CAGGTCAGATCCACAACCTGATAC
ACT- $\beta$	403580	Foward	GCCAACCGTGAGAAGATGA
		Reverse	CAGAGGCGTACAGGGACA

### 3.6. İmmünohistokimyasal Boyamalar

Histopatoloji incelemesinde, CEH-P ve CEH tanısı alan hastalara ait bloklardan, immünohistokimyasal çalışma için 2  $\mu$ m kalınlığında kesitler hazırlandı. Progesteron ve östrojen reseptör  $\alpha$  boyamaları için; sırasıyla, monoklonal mouse anti-human PR (Clone PgR 636) ve monoklonal rabbit anti-human ER $\alpha$  (Clone EP1) antikoları, (Dako, Omnis, Danimarka) kullanıldı.

Lamların kurutma ve deparafinizasyonu için kesitler etüvde (Nüve, EN500, İngiltere) 1 saat boyunca 60 °C'de inkübe edildi. Ardından tüm kesitler, oda ısısında, 15 dakika ksilolde ve 10'ar dakikalık 2 kez %96 etanolden geçirildi. Preparatlar 5



dakika boyunca akan musluk suyunda yıkandı ve PBS solüsyonu içinde 5 dakika süreyle bekletildi. Epitoplara açığa çıkması için yapılan antigen retrieval aşaması, 97 °C’de 20 dakika süreyle, ön işlem cihazında (PT Link, Dako, Danimarka) gerçekleştirildi. PBS solüsyonunda 5 dakika yıkanmış, ardından distile sudan geçirilerek kesitlerin çevresi PapPen ile sınırlandırıldı. Endojen peroksidaz inaktivasyonu için metanolde hazırlanan 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (SM801, Dako, Danimarka) içinde 5 dakika, oda ısısında bekletildi ve hemen 1xPBS içinde 5 dakika süreyle yıkandı. Kesitlerin etrafı dikkatlice kurularak ve kesitin üzerini kaplayacak şekilde primer antikor kullanıldı. Östrojen  $\alpha$  reseptör 1:80 dilüsyon oranında, progesteron reseptör ise kullanıma hazır dilüsyonda 30 dakika bekletildi. 1x PBS’de 5 dakika süreyle yıkandı. Kesit çevresi silindikten sonra sheep anti-mouse ve anti-rabbit horseradish peroksidaz (HRP- SM802, Dako, Danimarka) damlatılarak 20 dakika süreyle, oda ısısında inkübe edildi. 1xPBS solüsyonunda 2 kez 5’er dakika süreyle yıkandı. DAB + Kromojen (EnVision™ FLEX, Dako, Danimarka) karışımı hazır solüsyon damlatılarak 10 dakika süreyle oda ısısında inkübe edildi ve PBS solüsyonuyla 5 dakika süreyle yıkandı. Kesit çevresi silindikten sonra hemotoksilen (EnVision™ FLEX, Dako, Danimarka) damlatılarak 5 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Son olarak, 2’şer dakikalık 3 farklı derecede etanol serisinden geçirildikten sonra, ksilolde 5 dakika bekletildi Kesitler su bazlı kapatma maddesi (DPX Mountant Standart Viscosity, Atom Scientific Ltd., United Kingdom) ile kapatıldı. Boyanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi ve fotoğraflandı (Olympus CX41, Japonya).

### **3.7. Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi**

Uterusun immunohistokimyasal boyanmasından sonra (endometriyal bez, myometrium ve endometrial stroma) elde edilen verilerin normalite testleri Shapiro-Wilk yöntemi ile yapıldı. Verilerin istatistiksel karşılaştırılması, normal dağılan veriler için ANOVA, normal dağılmayan veriler için Kruskal-Wallis methodu ile yapıldı. Farklılıklar sırasıyla Tukey ve Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Real Time PCR verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinden önce normalite testleri Shapiro-Wilk yöntemi ile yapıldı. Verilerin istatistiksel karşılaştırılması, normal dağılan veriler için ANOVA, normal dağılmayan veriler için Kruskal-Wallis methodu ile yapıldı. Farklılıklar sırasıyla Tukey ve Mann-Whitney U testi ile

karşılaştırıldı. Sonuçlar her kategori için ortalama±SD (standard sapma) ile ifade edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS yazılımı (Windows için SPSS. Standart sürüm yayın 11,5. Copyright SPSS Inc., 2002, ABD) ile yapıldı.

### **3.8. Çalışmada Kullanılan Medyumların Hazırlanması**

#### **3.8.1. PBS Hazırlanması**

Operasyon sonrasında toplanan dokuların transportu ve yıkanması ile immunohistokimyasal boyamalarda yıkama medyumu olarak kullanılan solüsyon aşağıdaki formüle göre hazırlanmıştır.

#### **PBS (pH 7.2)**

NaCl	41 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	11 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.75 g
Distile su	1 litre

#### **3.8.2. Tamponlanmış Formaldehit Solüsyonunun Hazırlanması**

Immunohistokimyasal çalışmalarda kullanılmak üzere parafinde saklanacak olan dokuların fiksasyonu için kullanılan solüsyon aşağıdaki formüle göre hazırlandı.

#### **%10 Tamponlanmış Formaldehit Solüsyonu (pH 7.4)**

Formaldehit	500 ml
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	20 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	32.50 g
Distile su	5000 ml'ye tamamlandı

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinik Bulgular

#### 4.1.1. CEH-P-1.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular

Birinci gruba ait 5 hastadan bir tanesinde iştah (+), diğer dört hasta iştah (-) olarak bildirildi. Bu hastalardan bir tanesinde, serviks kapalı ve vaginal akıntı gözlenmezken, diğer dört hastanın serviksini açık olduğu ve değişken karakterli vaginal akıntı tespit edildi. Hastaların kliniğimize başvurmadan önceki son proöstrus kanamaları 25 gün ile 2 yıl arasında değişkenlik gösterdi. Hastalardan bir tanesi, daha önce pyometra şikâyeti ile kliniğine başvurduğunu bildirdi. Bu grup hastaların hiç birinin daha önce doğum yapmadığı ve 3 hastaya, östrus baskılama amacıyla 2-12 kez egzojen progesteron enjeksiyonu yapıldığı, hasta sahipleri tarafından bildirildi. Bu grubun hastalarının yaş ortalaması  $7.6 \pm 2.6$  olarak belirlendi.

#### 4.1.2. CEH-P-2.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular

İkinci gruba ait tüm hastalar iştahsızlık şikâyeti ile kliniğimize getirildi. Bu hastalardan iki tanesinin serviksi kapalı ve vaginal akıntı gözlenmezken, diğer üç hastanın serviksini açık olduğu ve değişken karakterli vaginal akıntı tespit edildi. Hastaların kliniğimize başvurmadan önceki son proöstrus kanamaları 1-3 ay arasında değişkenlik gösterdi. Bu grup hastalardan sadece bir tanesi daha önce doğum yapmış ve bir hastaya, östrus baskılama amacıyla egzojen progesteron enjeksiyonu yapıldığı, hasta sahipleri tarafından bildirildi. Bu grubun hastalarının yaş ortalaması  $7.4 \pm 2.3$  olarak belirlendi.

#### 4.1.3. CEH-P-3.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular

Üçüncü gruba ait tüm hastalar iştahsızlık şikâyeti ile kliniğimize getirildi. Bu hastalardan iki tanesinin serviksi kapalı ve vaginal akıntı gözlenmezken, diğer üç hastada serviksini açık olduğu ve değişken karakterli vaginal akıntı tespit edildi. Hastaların kliniğimize başvurmadan önceki son proöstrus kanamaları 25 gün ile 3 ay arasında değişkenlik gösterdi. Bu grup hastalardan sadece bir tanesi daha önce doğum yapmış ve bir hastaya, östrus baskılama amacıyla 2 kere egzojen progesteron

enjeksiyonu yapıldığı, hasta sahipleri tarafından bildirildi. Bu grubun hastalarının yaş ortalaması  $7.2 \pm 1.9$  olarak belirlendi.

#### **4.1.4. CEH-P-4.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular**

Dördüncü gruba ait tüm hastalar iştahsızlık şikâyeti ile kliniğimize getirildi. Bu hastalardan bir tanesinin serviksi kapalı ve vaginal akıntı gözlenmezken, diğer dört hastanın serviksini açık olduğu ve değişken karakterli vaginal akıntı tespit edildi. Hastaların kliniğimize başvurmadan önceki son proöstrus kanamaları 30 gün ile 75 gün arasında değişkenlik gösterdi. Bu grup hastalardan hiçbiri daha önce doğum yapmamış ve hiçbir hastaya, östrus baskılama amacıyla egzojen progesteron enjeksiyonu yapılmadığı, hasta sahipleri tarafından bildirildi. Bu grubun hastalarının yaş ortalaması  $5.4 \pm 2.3$  olarak belirlendi.

#### **4.1.5. NK-5.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular**

Bu grubun uterus örnekleri, sağlıklı köpeklerden alınmıştır. Rutinde OHE talebiyle barınağa getirilen, diöstrus döneminde, genital organlarında patolojiye rastlanmayan ya da sistemik başka bir hastalığı bulunmayan 5 köpeğe ait uterus örnekleri, negatif kontrol grubu olarak çalışmaya dâhil edildi. Bu grubun hastalarının yaş ortalaması  $3 \pm 0.70$  olarak belirlendi.

#### **4.1.6. CEH-6.Grup Hastalara Ait Klinik Bulgular**

Bu grubun uterus örnekleri, rutinde kısırlaştırma talebiyle kliniğe başvuran, diöstrus döneminde, ileri yaşlı hastalardan alındı. Tüm köpeklerin iştahının ve genel durumunun çok iyi olduğu, akıntısı bulunmayan ve klinik muayene bulgularının normal olduğu belirlendi. Operasyon sonrasında uterus patoloji raporuna göre, CEH tanısı almış, ancak enfeksiyon bulguları taşımayan ve sistemik olarak başka bir hastalığı bulunmayan, 5 köpeğe ait uterus örnekleri, pozitif kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Bu gruba ait köpeklerden iki tanesi daha önce doğum yapmış ve bir tanesine östrus baskılama amacıyla 2 kere egzojen progesteron enjeksiyonu yapıldığı, hasta sahipleri tarafından bildirildi. Bu grubun yaş ortalaması  $8.8 \pm 0.8$  olarak belirlendi.

Grupları oluşturan hastalara ait detaylı bilgiler Tablo 6'da verildi.

**Tablo 6:** Çalışmada kullanılan hastaların gruplara göre genel durum ve anamnez bulguları \*İki yıl önce pyometra geçirdi \*\* östrus başlamasıyla progesteron kullanımı

		Yaş	İştah	Serviks (Açık/Kapalı)	Mukoz Membran	Son proöstrus kanaması	Akıntı Karakteri	Gebelik Sayısı	Egzojen Progesteron Kullanımı
<b>CEH-P-1</b>	Ruby	4	+	Açık	Hiperemik	2 yıl	Kanlı	-	2 kez
	Salkım	11	-	Açık	Anemik	90 gün	Kanlı	-	8 kez
	Şeker	9	-	Açık	Hiperemik	30 gün	Kanlı	-	-
	Mira	7	-	Açık	Hiperemik	25 gün *	Kanlı	-	-
	Leydi	7	-	Kapalı	Anemik	-.**	Yok	-	12 kez
<b>CEH-P- 2</b>	Bulut	11	-	Açık	Anemik	90 gün	Mukopurulent akıntı	-	-
	Daisy	7	-	Açık	Hiperemik	90 gün	Koyu renkli pıhtılı kanlı vaginal akıntı	-	-
	Köpük	6	-	Kapalı	Hiperemik	60 gün	Akıntı yok	-	1 kez
	Pamuk	8	-	Açık	Hiperemik	30 gün	Kanlı vaginal akıntı	2	-
	Zed	5	-	Kapalı	Hiperemik	90 gün	Yok	-	-
<b>CEH-P-3</b>	Ateş	10	-	Kapalı	Anemik	25 gün	Akıntı yok	1	-
	Bal	8	-	Açık	Hiperemik	90 gün	Kanlı mukopurulent akıntı	-	-
	Hira	7	-	Açık	Anemik	45 gün	Kanlı vaginal akıntı	-	-
	Kasap	6	-	Kapalı	Hiperemik	60 gün	Akıntı yok	-	2 kez
	Zeyna	5	-	Açık	Hiperemik	30 gün	Mukopurulent kanlı vaginal akıntı	-	-
<b>CEH-P-4</b>	Çakıl	2	-	Kapalı	Hiperemik	30 gün	Akıntı yok	-	-
	Honey	5	-	Açık	Hiperemik	75 gün	Kanlı mukopurulent	-	-
	K.Selin	8	-	Açık	Hiperemik	60 gün	Kanlı purulent akıntı	-	-
	Tarçın	7	-	Açık	Anemik	-	Mukopurulent vaginal akıntı	-	-
	Limon	5	-	Açık	Hiperemik	-	Kanlı vaginal akıntı	-	-
<b>NK-5</b>	Sağlıklı	4	+	-	Normal	-	Akıntı yok	-	-
	Sağlıklı	3	+	-	Normal	-	Akıntı yok	-	-
	Sağlıklı	2	+	-	Normal	-	Akıntı yok	1	-
	Sağlıklı	3	+	-	Normal	-	Akıntı yok	-	-
	Sağlıklı	3	+	-	Normal	-	Akıntı yok	1	-
<b>CEH-6</b>	Merve	9	+	-	Normal	32 gün	Akıntı yok	-	2
	Jüliet	9	+	-	Normal	60 gün	Akıntı yok	-	-
	Mişha	8	+	-	Normal	52 gün	Akıntı yok	1	-
	Anıl	10	+	-	Normal	28 gün	Akıntı yok	1	-
	Hansel	8	+	-	Normal	70 gün	Akıntı yok	-	-

## 4.2. Gruplara Göre Hemogram ve Ultrasonografi Muayenesi

### 4.2.1. CEH-P-1.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları

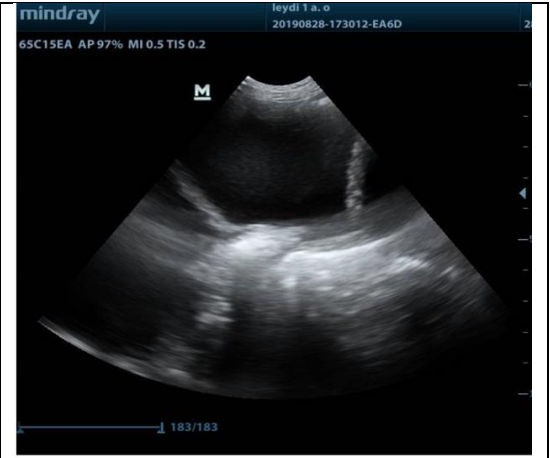
CEH-P-1.Grup hastaların tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü gününde hemogram sonuçları, ortalama değerler ve hastaların alt sınır- üst sınır değerleri Tablo 7-8-9-10-11-12’de verildi.

**Tablo 7:** CEH-P-1.Grup hastaların tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü gününde hemogram sonuçları, ortalama değerler ve hastaların alt sınır- üst sınır değerleri

Parametreler	Referans Aralığı	Ortalama Değer		Alt Sınır / Üst Sınır	
		Tedavi Öncesi	Tedavinin 3. gününde	Tedavi Öncesi	Tedavinin 3. gününde
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	6-17	43.21±36.71	51.97±48.70	14.83-107	11.91-135.8
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	1-4.8	4.35± 4.62	4.11± 3.52	1.4-12.51	1.21-10.04
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.2-1.5	0.67±0.32	3.64±4.30	0.26-1.04	0.7-10.72
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	3-12	38.81±31.64	44.09±4.26	11.28-93.42	9.76-115
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.8	0.51±0.40	0.65±1.14	0.26-1.23	0.02-2.69
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.4	0.04±0.02	0.01±0.01	0.01-0.08	0.00-0.04
LY%	12-30	9.78±3.86	8.94±3.93	6.2-15.3	5.3-15.2
MON%	2-4	2.62±2.36	6.1±2.97	0.6-6.4	2.1-9.8
NE%	62-87	81.38±10.61	79.32±7.03	65.1-89.6	67.1-84.7
EO%	0-8	1.08±0.51	1.96±3.25	0.4-1.8	0.00-7.7
BA%	0-2	0.14±0.26	0.08±0.7	0.00-0.6	0.00-0.4
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.5-8.5	5.28±1.09	5.01±1.41	3.51-6.51	2.85-6.69
HGB g/dl	12-18	11.52±2.35	11.04±3.24	7.9-14.4	6.4-14.5
HCT%	37-55	34.27±5.38	32.95±8.57	24.9-37.19	20.4-44.34
MCV fl	60-77	65.6±5.45	65.6±5.17	57-71	58-72
MCH pg	19.5-24.5	22.1±3.08	21.92±3.10	18.2-26.7	17.6-26.3
MCHC g/dl	31-34	33.52±2.77	33.32±3.24	31.8-38.4	30.2-38.7
RDWc%		16.62±0.77	16.54±0.58	15.7-17.7	16-17.2
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	200-500	135.6±5.86	132.6±86.30	31-255	43-226
PCT		0.09±0.07	0.08±0.05	0.02-0.18	0.03-0.16
MPV	3.9-11.1	14.49±12.72	12.63±8.85	7.1-36.95	7.2-28.37
PDWc		36.74±4	38.46±4.14	34.8-43.9	34-43.2

**Tablo 8:** Leydi, 7 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü gününde alınan hemogram sonuçları

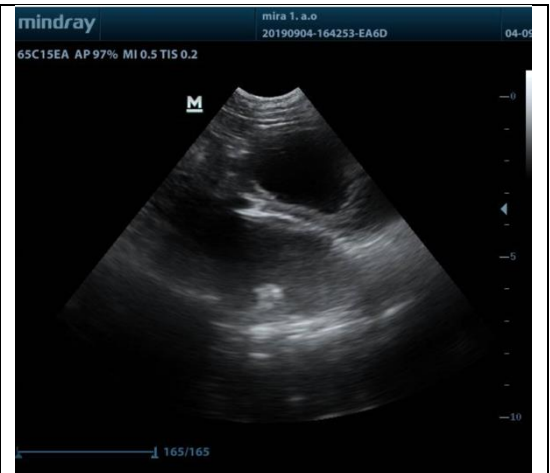
	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	14.83	11.91
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.26	1.21
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.94	0.73
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	11.28	9.76
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.26	0.16
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.08	0.04
LY%	15.3	10.2
MON%	6.4	6.2
NE%	76.1	82
EO%	1.8	1.3
BA%	0.6	0.4
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.58	6.69
HGB g/dl	12.3	14.5
HCT%	37.19	44.34
MCV fl	67	66
MCH pg	22.1	21.7
MCHC g/dl	33.1	32.7
RDWc%	15.7	15.9
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	255	226
PCT	0.18	0.16
MPV	7.1	7.2
PDWc	35.0	34.2



**Resim 1:** Leydi, 7 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 9:** Mira, 7 yaşlı, Chow Chow ırkı köpeğin tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü gününde alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	33.90	48.79
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.11	3.22
MON 10 <sup>3</sup> /µl	1.04	4.80
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	30.36	40.38
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.38	0.37
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.01	0.02
LY%	6.2	6.6
MON%	3.1	9.8
NE%	89.6	82.8
EO%	1.1	0.8
BA%	0.0	0.0
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	6.51	5.62
HGB g/dl	11.8	9.9
HCT%	37.19	32.81
MCV fl	57	58
MCH pg	18.2	17.6
MCHC g/dl	31.9	30.2
RDWc%	17.0	17
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	31	43
PCT	0.02	0.04
MPV	7.1	8.4
PDWc	34.8	40.0



**Resim 2:** Mira, 7 yaşlı, Chow Chow ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 10:** Ruby, 4 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü gününde alınan hemogram sonuçları

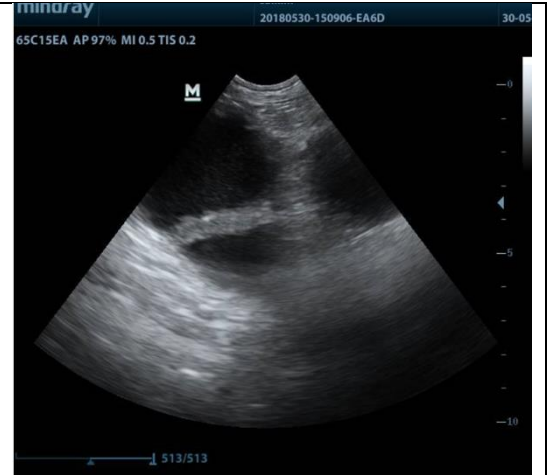
	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	23.4	35.0
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	1.40	1.80
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.50	0.70
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	26.2	32.6
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	1.23	2.69
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.02	0.01
LY%	6.2	5.3
MON%	2.3	2.1
NE%	65.1	67.1
EO%	1.23	7.7
BA%	0	0
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.35	4.7
HGB g/dl	11.2	10.7
HCT%	34.5	31.9
MCV fl	64	64
MCH pg	20.9	21.4
MCHC g/dl	32.4	33.4
RDWc%	17.7	17.2
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	194	219
PCT	0.02	0.03
MPV	9.2	9.4
PDWc	35	34



**Resim 3:** Ruby, 4 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 11:** Salkım, 11 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü gününde alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	107.0	135.8
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	12.51	10.04
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.6	10.72
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	93.42	115.0
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.38	0.02
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.04	0.00
LY%	11.7	7.4
MON%	0.6	7.9
NE%	87.3	84.7
EO%	0.4	0.0
BA%	0.0	0
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.47	5.21
HGB g/dl	14.4	13.7
HCT%	37.58	35.34
MCV fl	69	68
MCH pg	26.7	26.3
MCHC g/dl	38.4	38.7
RDWc%	16.6	16.6
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	83	60
PCT	0.10	0.06
MPV	12.1	9.8
PDWc	43.9	40.9

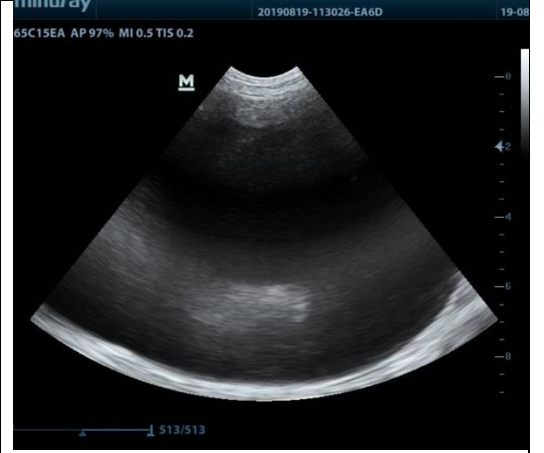


**Resim 4:** Salkım, 11 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü



**Tablo 12:** Şeker, 9 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü gününde alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	36.95	28.37
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	3.50	4.32
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.26	1.29
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	32.81	22.71
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.33	0.05
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.05	0.01
LY%	9.5	15.2
MON%	0.7	4.5
NE%	88.8	80
EO%	0.9	0.02
BA%	0.1	0.0
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	3.51	2.85
HGB g/dl	7.9	6.4
HCT%	24.90	20.40
MCV fl	71	72
MCH pg	22.6	22.6
MCHC g/dl	31.8	31.6
RDWc%	16.1	16.1
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	115	115
PCT	0.14	0.13
MPV	36.95	28.37
PDWc	35	432



**Resim 5:** Şeker, 9 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

#### 4.2.2. CEH-P-2.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları

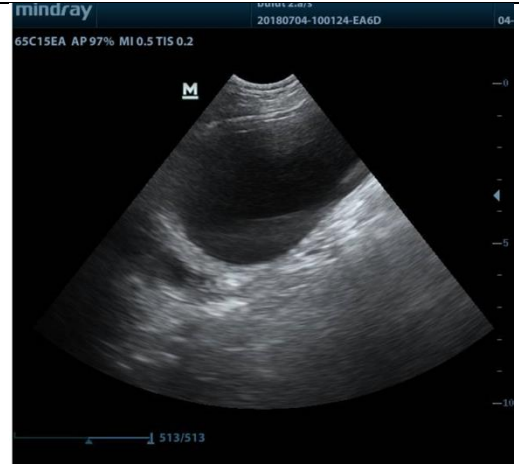
CEH-P-2.Grup hastaların tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü ve sekizinci gününde hemogram sonuçları, ortalama değerler, hastaların alt sınır- üst sınır değerleri Tablo 13-14-15-16-17-18'de verildi.

**Tablo 13:** CEH-P-2.Grup hastaların tedavi öncesi ve tedavinin üçüncü ve sekizinci gününde hemogram sonuçları, ortalama değerler, hastaların alt sınır- üst sınır değerleri

	Referans Aralığı	Ortalama Değer			Alt Sınır / Üst Sınır		
		Tedavi Öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8. günü	Tedavi Öncesi	Tedavinin 3. günü	Tedavinin 8.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	6-17	34.54±15.81	43.8±10.75	28.76±16.0	29.14-60.4	32.12-57.96	13.99-49.1
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	1-4.8	2.93±0.86	4.11±1.22	3.26±1.60	2.18-4.13	3.18-6.16	2.25-6.11
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.2-1.5	1.30±1.44	2.60±1.59	2.05±1.75	0.4-3.81	0.97-4.85	0.56-4.66
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	3-12	32.93±13.96	36.72±8.82	23.24±13.5	14.65-51.9	26.21-46.62	10.84-41.59
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.8	0.29±0.15	0.34±0.04	0.14±0.09	0.19-0.45	0.29-0.41	0.07-0.27
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.4	0.16±0.23	0.06±0.04	0.06±0.4	0.01-0.58	0.01-0.12	0.002-0.12
LY%	12-30	8.38±2.36	9.7±2.84	12.78±4.47	6.1-12.2	6.5-13.1	5.6-17.9
MON%	2-4	3.38±2.49	5.5±2.27	6.22±2.16	0.6-6.3	2.8-8.4	4-9.5
NE%	62-87	87.02±3.44	83.78±2.65	80±2.80	82.1-90.9	80.4-86.4	77.5-84.7
EO%	0-8	0.74±0.21	0.86±0.32	0.72±0.6	0.5-1.1	0.6-1.3	0.2-1.6
BA%	0-2	0.44±0.59	0.16±0.15	0.28±0.29	0.1-1.5	0.00-0.4	0-0.6
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.5-8.5	5.16±1.35	4±0.97	4.29±0.86	3.36-6.72	2.86-5.23	2.86-5
HGB g/dl	12-18	11.56±2.36	9.4±1.82	10.02±2.25	8.5-14.1	6.8-11.2	6.4-12
HCT%	37-55	34.48±8.44	26.91±5.96	28.83±5.32	23.46-43.31	20.48-33.56	20.04-33.51
MCV fl	60-77	67.2±3.03	67.4±3.43	67.4±2.79	64-70	64-72	64-70
MCH pg	19.5-24.5	22.66±1.67	24.28±1.04	23.28±2.15	20.5-25.2	23.3-26	21.1-26.1
MCHC g/dl	31-34	34.15±2.04	35.12±3.06	35.07±2.17	31.8-36.1	33.1-40.5	32.2-37.8
RDWc%		17±1.47	16.9±1.74	17.46±2.29	15.6-19.5	15.4-19.9	16-16.9
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	200-500	1215.8±2350.48	150.2±82.47	291.2±113	74-5417	37-243	176-444
PCT		0.701±1.21	0.154±0.08	0.32±0.15	0.09-2.88	0.003-0.23	0.18-0.57
MPV	3.9-11.1	9.54±3.09	12.3±5.29	11.04±2.07	5.3-12.5	7.6-21.1	8.1-13.2
PDWc		37.1±8.48	40.7±3.52	41.46±3.31	23.5-44.2	35.5-43.7	35.8-44.1

**Tablo 14:** Bulut, 11 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü ve sekizinci gününde alınan hemogram sonuçları

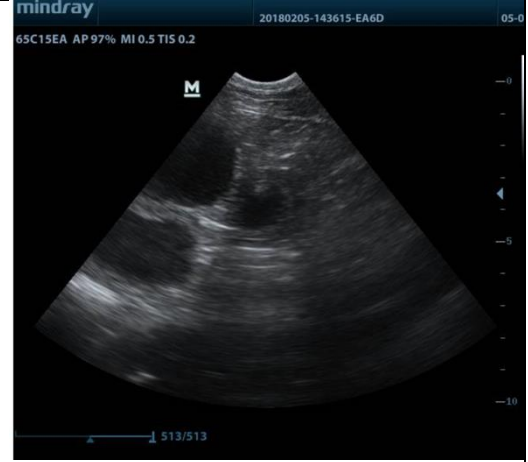
	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	38.4	49.17	49.10
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.36	3.19	2.74
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.40	3.10	4.66
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	35.30	42.7	41.59
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.19	0.33	0.08
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.58	0.08	0.04
LY%	6.1	6.5	5.6
MON%	1.0	6.3	9.5
NE%	90.9	86.4	84.7
EO%	0.5	0.7	0.2
BA%	1.5	0.2	0.1
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	6.29	4.77	4.95
HGB g/dl	14.1	11.1	12.0
HCT%	42.59	32.65	33.51
MCV fl	68	68	68
MCH pg	22.4	23.3	24.1
MCHC g/dl	33.1	34.1	35.7
RDWc%	16.8	16.1	16.1
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	5417	198	358
PCT	2.88	0.23	0.39
MPV	5.3	11.7	11.0
PDWc	23.5	42.6	41.4



**Resim 6:** Bulut, 11 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 15:** Daisy, 7 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü ve sekizinci gününde alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8. günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	41.91	57.96	42.90
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	3.56	6.16	6.11
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.26	4.85	3.08
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	37.57	46.62	33.61
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.47	0.33	0.09
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.05	0.01	0.02
LY%	8.5	10.6	14.2
MON%	0.6	8.4	7.2
NE%	89.6	80.4	78.3
EO%	1.1	0.6	0.2
BA%	0.1	0.0	0.0
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	4.78	3.46	4.38
HGB g/dl	10.8	9.0	9.3
HCT%	30.40	22.17	28.18
MCV fl	64	64	64
MCH pg	22.6	26.0	21.1
MCHC g/dl	35.6	40.5	32.8
RDWc%	19.5	19.9	21.5
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	90	37	176
PCT	0.09	0.03	0.18
MPV	10.5	8.8	10.1
PDWc	42.1	38.6	42.8



**Resim 7:** Daisy, 7 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 16:** Köpük, 6 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü ve sekizinci gününde alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	17.85	34.14	20.39
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.18	3.84	2.72
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.89	0.97	1.05
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	14.65	28.90	16.29
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.12	0.38	0.22
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.01	0.05	0.12
LY%	12.2	11.3	13.3
MON%	5	2.8	5.1
NE%	82.1	84.6	79.9
EO%	0.7	1.1	1.1
BA%	0.1	0.1	0.6
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	4.67	3.71	4.28
HGB g/dl	10.6	8.9	11.4
HCT%	32.64	25.73	30.17
MCV fl	70	69	70
MCH pg	22.6	24.0	26.6
MCHC g/dl	32.4	34.6	37.8
RDWc%	16.4	16.4	16.8
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	74	97	444
PCT	0.09	0.12	0.57
MPV	12.5	12.3	12.8
PDWc	44.2	43.7	43.2



**Resim 8:** Köpük, 6 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 17:** Pamuk, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü ve sekizinci gününde alınan hemogram sonuçları

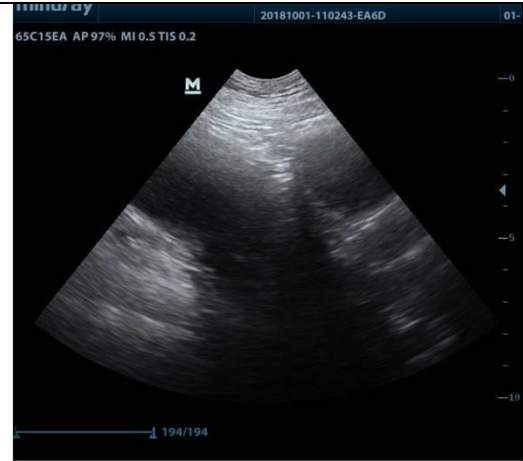
	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8. günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	60.40	45.61	13.99
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	4.13	3.18	2.50
MON 10 <sup>3</sup> /µl	3.81	2.92	0.56
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	51.90	39.17	10.84
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.45	0.29	0.07
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.10	0.06	0.02
LY%	6.8	7.0	17.9
MON%	6.3	6.4	4.0
NE%	85.9	85.9	77.5
EO%	0.7	0.6	0.5
BA%	0.2	0.1	0.1
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	3.36	2.86	2.86
HGB g/dl	8.5	6.8	6.4
HCT%	23.46	20.48	20.04
MCV fl	70	72	70
MCH pg	25.2	23.7	22.6
MCHC g/dl	36.1	33.1	32.2
RDWc%	15.6	15.4	16.0
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	184	176	189
PCT	0.22	0.21	0.25
MPV	12.0	21.1	13.2
PDWc	41.5	43.1	44.1



**Resim 9:** Pamuk, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 18:** Zed, 5 yaşlı, Rottweiler ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü ve sekizinci gününde alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	29.14	32.12	17.42
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.43	4.21	2.25
MON 10 <sup>3</sup> /µl	1.17	1.17	0.92
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	25.24	26.21	13.87
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.22	0.41	0.27
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.09	0.12	0.10
LY%	83	13.1	12.9
MON%	4	3.6	5.3
NE%	86.6	81.6	79.6
EO%	0.7	1.3	1.6
BA%	0.3	0.4	0.6
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	6.72	5.23	5
HGB g/dl	13.8	11.2	11
HCT%	43.31	33.56	32.29
MCV fl	64	64	65
MCH pg	20.5	24.4	22
MCHC g/dl	31.8	33.3	34
RDWc%	16.7	16.7	16.9
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	314	243	289
PCT	0.23	0.18	0.24
MPV	7.4	7.6	81
PDWc	34.2	35.5	35.8



**Resim 10:** Zed, 5 yaşlı, Rottweiler ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

### 4.2.3. CEH-P-3.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları

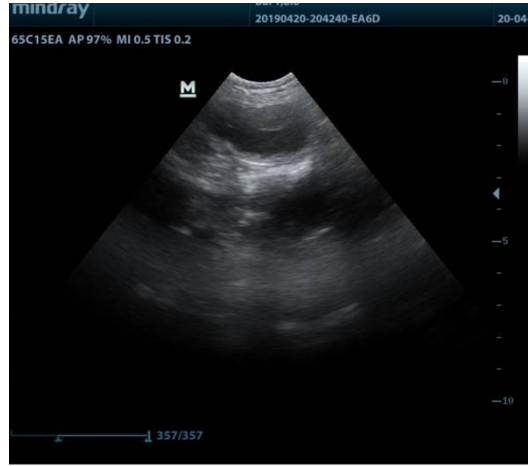
CEH-P-3.Grup hastaların tedavi öncesi ve üçüncü, sekizinci ve on beşinci gününde hemogram sonuçları, ortalama değerler, hastaların alt sınır- üst sınır değerleri Tablo 19-20-21-22-23-24'de verildi.

**Tablo 19:** CEH-P-3.Grup hastaların tedavi öncesi ve üçüncü, sekizinci ve on beşinci gününde hemogram sonuçları, ortalama değerler, hastaların alt sınır- üst sınır değerleri

	Referans Aralığı	Ortalama Değer				Alt Sınır / Üst Sınır			
		Tedavi Öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8. günü	Tedavinin 15. günü	Tedavi Öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8. günü	Tedavinin 15. günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	6-17	55.03±33.4	51.51±28.54	22.56±9.05	18.80±2.20	15.4-88.38	16-75.25	14.7-38.1	18.2-22.4
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	1-4.8	4.68±1.85	4.28±1.75	2.53±0.79	3.41±2.39	2.97-7.8	2.3-6.19	1.8-3.43	1.5-7.48
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.2-1.5	4.21±3.50	3.91±2.99	1.03±0.49	4.35±7.94	0.6-8.7	0.7-7.52	0.6-1.79	0.3-18.52
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	3-12	46.17±29.2	41.99±24.20	19.00±8.24	27.54±25.45	11.4-74.3	11.5-67.16	11.5-38.8	13.67-72.84
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.8	3.52±5.06	3.52±4.99	3.40±5.46	3.61±6.72	0.06-11.4	0.09-11.5	0.04-12.7	0.03-15.6
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.4	0.04±0.03	0.1±0.1	0.02±0.03	0.19±0.39	0.01-0.07	0.02-0.24	0-0.02	0-0.9
LY%	12-30	12.4±8.43	11.08±7.47	11.78±3.63	7.92±5.20	4.7-24.5	5.2-24	9-17.8	1.40-14.2
MON%	2-4	7.42±2.99	5.88±2.15	4.82±2.01	2.83±0.79	3.5-9.8	3.5-9.3	2.7-7.8	1.6-3.6
NE%	0-8	2.18±2.88	2.3±2.74	1.78±1.64	2.86±3.56	0.1-6.2	0.1-5.4	0.1-4	0.14-7.
EO%	0-2	0.07±0.04	0.11±0.11	0.22±0.26	0.13±0.16	0-0.1	0-0.3	0-0.6	0-0.16
BA%	5.5-8.5	6.29±1.68	5.13±1.62	5.05±1.55	7.71±1.80	4.3-7.85	3.37-7.03	2.97-6.6	3.22-7.34
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	12-18	13.92±3.06	12.06±3.63	11.44±3.85	12.56±3.75	9.5-17.6	8.3-15.7	7.3-16.1	8.2-7.3
HGB g/dl	37-55	40.86±8.52	35.9±10.57	34.59±9.62	38.68±11	28.11-51.05	22.84-46.2	23.6-46.22	26.6-48.5
HCT%	60-77	67.86±4.20	70.6±9.39	69.52±6.02	69.72±8.35	61-74.3	63-77	65-79.6	59.9-82.7
MCV fl	19.5-24.5	23.14±1.06	23.5±1.29	22.54±1.97	23.38±1.89	22-24.5	22-24.9	19.8-24.5	20.4-25.4
MCH pg	31-34	34.4±1.44	34.6±1.43	32.58±2.12	33.78±2	33-36.8	32.4-36.3	30.5-34.9	30.8-36
MCHC g/dl		15.82±0.78	15.22±1.27	15.7±1.58	16.5±0.9	15-16.9	13.4-16.5	13.5-16.9	15.6-17.7
RDWc%	200-500	354.4±177.5	301.4±119.46	324.6±124.	381.6±169.5	108-513	154-427	173-491	185-605
PLT 10 <sup>3</sup> /µl		0.32±0.17	0.3±0.15	0.37±0.1	0.41±0.15	0.1-0.55	0.14-0.55	0.26-0.53	0.26-0.52
PCT	3.9-11.1	8.52±0.88	10.36±3.47	10.08±0.48	10.58±1.12	7.5-9.5	7.9-16.5	9.5-10.7	9.2-12.2
MPV		33.46±10.04	32.64±14.37	35.14±10.4	28.94±13.49	17-42.8	7.7-43.6	17.2-42.6	12.2-40.8

**Tablo 20:** Bal, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü, sekizinci ve on beşinci gününde alınan hemogram sonuçları

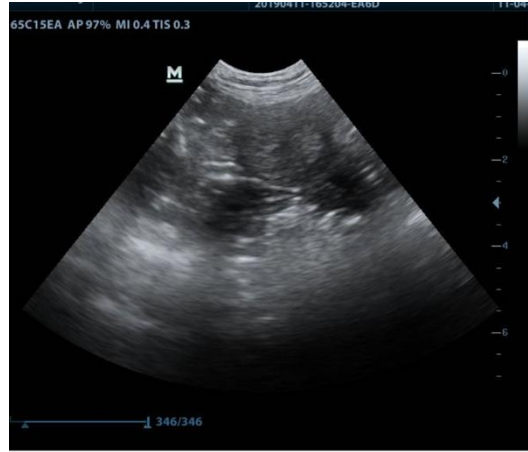
	Tedavi öncesi	Tedavinin 3. günü	Tedavinin 8. günü	Tedavinin 15. günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	63.53	55.80	38.10	18.20
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.97	2.30	3.43	3.48
MON 10 <sup>3</sup> /µl	6.25	5.82	1.79	1.90
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	54.13	42.50	32.82	15.40
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.14	0.09	0.04	0.03
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.04	0.04	0.02	0.01
LY%	4.7	5.2	9.0	5.2
MON%	9.8	5.8	4.7	2.8
NE%	85.2	86.5	86.1	72.3
EO%	0.2	0.1	0.1	0.2
BA%	0.1	0.1	0.0	0.0
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.93	6.20	6.60	7.30
HGB g/dl	14.2	15.7	16.1	13.8
HCT%	41.75	46.20	46.22	48.5
MCV fl	70	84	70	70
MCH pg	24.0	24.7	24.3	24.5
MCHC g/dl	34.0	32.8	34.8	34.9
RDWc%	16.3	16.5	16.9	16.1
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	226	212	273	320
PCT	0.21	0.27	0.26	0.29
MPV	9.3	9.1	9.5	9.2
PDWc	40.0	40.8	40.4	40.8



**Resim 11:** Bal, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 21:** Hira, 7 yaşlı, Terrier ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü, sekizinci ve on beşinci gününde alınan hemogram sonuçları

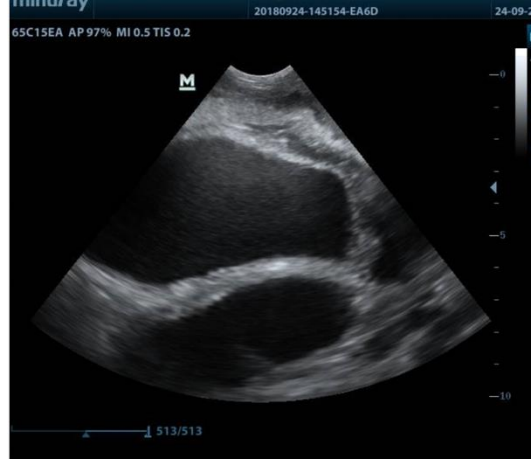
	Tedavi öncesi	Tedavinin 3. günü	Tedavinin 8. günü	Tedavinin 15. günü
<b>WBC</b> 10 <sup>3</sup> /µl	83.27	81.6	18.2	16.38
<b>LYM</b> 10 <sup>3</sup> /µl	4.20	6.19	3.36	1.99
<b>MON</b> 10 <sup>3</sup> /µl	4.70	7.52	1.05	0.56
<b>NEU</b> 10 <sup>3</sup> /µl	74.31	67.16	14.19	13.67
<b>EOS</b> 10 <sup>3</sup> /µl	0.06	0.16	0.13	0.08
<b>BAS</b> 10 <sup>3</sup> /µl	0.01	0.03	0.08	0.06
<b>LY%</b>	6.2	7.6	17.8	12.1
<b>MON%</b>	9.1	9.3	5.6	3.6
<b>NE%</b>	83	82.9	75.4	83.4
<b>EO%</b>	0.1	0.2	0.7	0.5
<b>BA%</b>	0.0	0.0	0.4	0.4
<b>RBC</b> 10 <sup>6</sup> /µl	7.85	5.53	5.10	6.17
<b>HGB</b> g/dl	17.6	12.4	11.0	14.2
<b>HCT%</b>	51.05	36.03	34.51	43.10
<b>MCV</b> fl	65	65	68	70
<b>MCH</b> pg	22.4	22.5	21.5	23
<b>MCHC</b> g/dl	34.5	34.5	31.8	32.9
<b>RDWc%</b>	16.9	16.3	17.5	17.2
<b>PLT</b> 10 <sup>3</sup> /µl	108	154	491	605
<b>PCT</b>	0.10	0.14	0.53	0.61
<b>MPV</b>	9.5	9.3	10.7	10
<b>PDWc</b>	42.8	43.6	42.6	40.2



**Resim 12:** Hira, 7 yaşlı, Terrier ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 22:** Kasap, 6 yaşlı, Kopay ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü, sekizinci ve on beşinci gününde alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8. günü	Tedavinin15.günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	88.38	75.25	14.70	18.73
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	7.86	6.03	1.80	7.48
MON 10 <sup>3</sup> /µl	8.70	4.52	1.15	18.52
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	71.61	64	11.50	72.84
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.11	0.45	0.16	0.76
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.07	0.24	0.008	0.90
LY%	8.9	8	12.3	1.401
MON%	9.8	6	7.8	3.468
NE%	81	85.1	78.2	13.551
EO%	0.1	0.6	1.1	0.142
BA%	0.1	0.3	0.6	0.168
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	4.30	3.54	4.11	4.54
HGB g/dl	9.5	8.3	8.2	9.3
HCT%	28.11	22.84	26.76	27.1
MCV fl	65	64	65	59.9
MCH pg	22	23.4	19.8	20.4
MCHC g/dl	33.7	36.3	30.5	34.3
RDWc%	15.2	14.6	15	17.7
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	513	427	406	294
PCT	0.40	0.34	0.40	0.26
MPV	7.8	7.9	9.7	12.2
PDWc	34.8	36.1	40.9	12.2



**Resim 13:** Kasap, 6 yaşlı, Kopay ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü



**Tablo 23:** Zeyna, 5 yaşlı, Rottweiler ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü, sekizinci ve on beşinci gününde alınan hemogram sonuçları

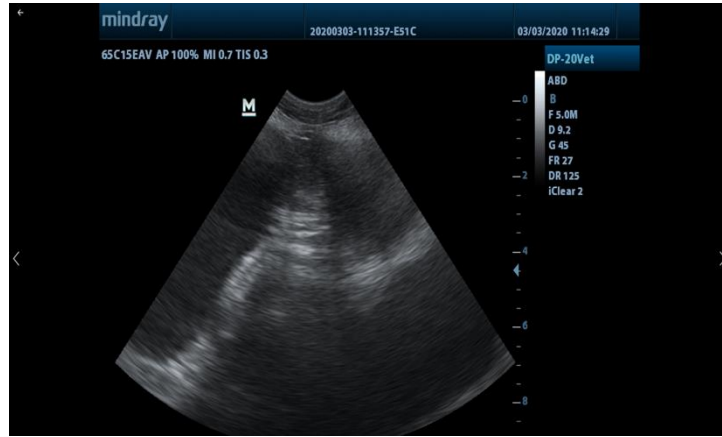
	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8. günü	Tedavinin 15. günü
<b>WBC</b> 10 <sup>3</sup> /µl	15.4	16.0	21.1	22.4
<b>LYM</b> 10 <sup>3</sup> /µl	4	3.80	1.90	1.50
<b>MON</b> 10 <sup>3</sup> /µl	0.6	0.70	0.60	0.30
<b>NEU</b> 10 <sup>3</sup> /µl	11.40	11.50	18.6	20.60
<b>EOS</b> 10 <sup>3</sup> /µl	5.9	5.4	4	1.61
<b>BAS</b> 10 <sup>3</sup> /µl	0.1	0.2	0	0
<b>LY%</b>	24.5	24.0	9	6.7
<b>MON%</b>	4.9	4.8	3.3	1.6
<b>NE%</b>	70.5	71.2	87.7	97.7
<b>EO%</b>	6.2	5.4	4	7.2
<b>BA%</b>	0.09	0.09	0.07	0.07
<b>RBC</b> 10 <sup>6</sup> /µl	8.2	7.03	6.47	7.34
<b>HGB</b> g/dl	15.6	15.5	14.6	17.3
<b>HCT%</b>	45	44.5	41.9	48.1
<b>MCV</b> fl	65	63	65	66
<b>MCH</b> pg	22.8	22	22.6	23.6
<b>MCHC</b> g/dl	36.8	34.8	34.9	36
<b>RDWc%</b>	15.7	15.3	15.6	15.6
<b>PLT</b> 10 <sup>3</sup> /µl	450	409	173	185
<b>PCT</b>	0.55	0.55	0.40	0.39
<b>MPV</b>	8.5	9	10.3	11
<b>PDWc</b>	32.7	35	34.6	34.7



**Resim 14:** Zeyna, 5 yaşlı, Rottweiler ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 24:** Ateş, 10 yaşlı, Cane Corsa ırkı köpeğin tedavi öncesi, tedavinin üçüncü, sekizinci ve on beşinci gününde alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavinin 3.günü	Tedavinin 8. günü	Tedavinin 15. günü
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	24.6	28.9	20.7	18.3
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	4.4	3.1	2.2	2.6
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.8	1.0	0.6	0.5
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	19.4	24.8	17.9	15.2
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	11.40	11.50	12.7	15.6
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.01	0.02	0	0
LY%	17.7	10.6	10.8	14.2
MON%	3.5	3.5	2.7	2.7
NE%	178.8	85.9	86.5	83.1
EO%	4.3	5.2	3.0	6.3
BA%	0.07	0.07	0.04	0.04
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.18	3.37	2.97	3.22
HGB g/dl	12.7	8.4	7.3	8.2
HCT%	38.4	25.9	23.6	26.6
MCV fl	74.3	77	79.6	82.7
MCH pg	24.5	24.9	24.5	25.4
MCHC g/dl	33.0	32.4	30.9	30.8
RDWc%	15	13.4	13.5	15.9
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	475	305	280	504
PCT	0.356	0.23	0.28	0.52
MPV	7.5	16.5	10.2	10.5
PDWc	17	7.7	17.2	16.8



**Resim 15:** Ateş, 10 yaşlı, Cane Corsa ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

#### 4.2.4. CEH-P-4.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları

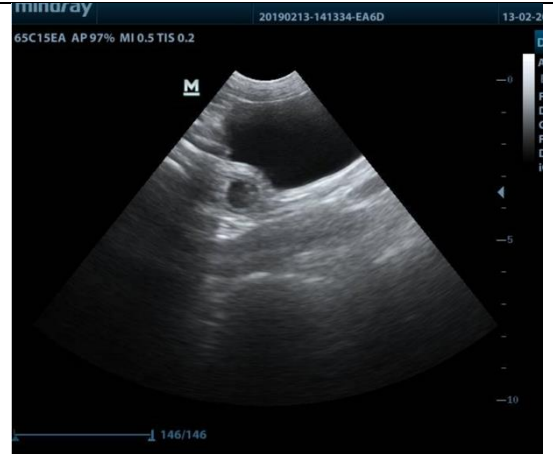
CEH-P-4.Grup hastaların tedavi öncesi hemogram sonuçları, ortalama değerler ve hastaların alt sınır-üst sınır değerleri Tablo 25-26-27-28-29-30'da verildi.

**Tablo 25:** CEH-P-4.Grup hastaların tedavi öncesi hemogram sonuçları, ortalama değerler ve hastaların alt sınır-üst sınır değerleri

	Referans Aralığı	Ortalama Değer	Alt Sınır / Üst Sınır
		Tedavi öncesi	Tedavi öncesi
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	6-17	24.16±2.99	18.9-26.3
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	1-4.8	2.47±0.99	1.27-4.00
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.2-1.5	0.77±0.2	0.57-1.07
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	3-12	20.79±2.24	16.9-22.57
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.8	1.39±1.91	0.15-4.7
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.4	0.23±0.14	0.05-0.39
LY%	12-30	11.48±7.54	5.1-24.5
MON%	2-4	3.54±1.04	2.2-4.9
NE%	62-87	82.44±6.67	70.5-85.8
EO%	0-8	3.04±2.65	0.6-6.2
BA%	0-2	0.77±0.79	0.06-1.5
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.5-8.5	5.98±1.33	4.7-8.2
HGB g/dl	12-18	13.82±1.74	11.5-15.6
HCT%	37-55	39.74±4.51	33.82-45
MCV fl	60-77	69.6±16.12	65-72
MCH pg	19.5-24.5	24.34±2.38	22-28.2
MCHC g/dl	31-34	35.32±3.42	31-40.2
RDWc%		16.7±0.8	15.7-17.8
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	200-500	663.2±626.9	212-1665
PCT		0.448±0.28	0.24-0.91
MPV	3.9-11.1	9.16±3.1	5.5-14.1
PDWc		35.08±8.13	23.9-45.9

**Tablo 26:** Çakıl, 2 yaşlı, Sibirya Kurdu ırkı köpeğin tedavi öncesi alınan hemogram sonuçları

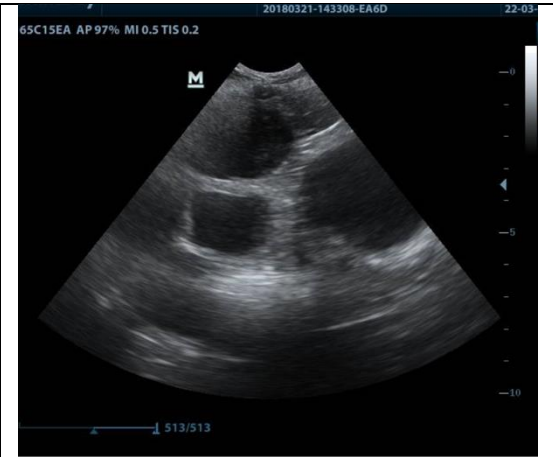
	Tedavi öncesi
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	25.05
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	1.27
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.72
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	21.31
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	1.37
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.38
LY%	5.1
MON%	2.9
NE%	85.1
EO%	5.5
BA%	1.5
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	6.12
HGB g/dl	13.5
HCT%	43.46
MCV fl	71
MCH pg	22
MCHC g/dl	31
RDWc%	17.8
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	267
PCT	0.24
MPV	9.1
PDWc	39



**Resim 16:** Çakıl, 2 yaşlı, Sibirya Kurdu ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 27:** Honey, 5 yaşlı, Kıрма ırkı köpeğin tedavi öncesi alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	25.60
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.44
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.57
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	21.90
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.56
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.14
LY%	9.5
MON%	2.2
NE%	85.5
EO%	2.2
BA%	0.6
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.39
HGB g/dl	13.0
HCT%	37.83
MCV fl	70
MCH pg	24.2
MCHC g/dl	34.5
RDWc%	16.8
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	212
PCT	0.30
MPV	14.1
PDWc	45.9



**Resim 17:** Honey, 5 yaşlı, Kıрма ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 28:** Köpük Selin, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi alınan hemogram sonuçları

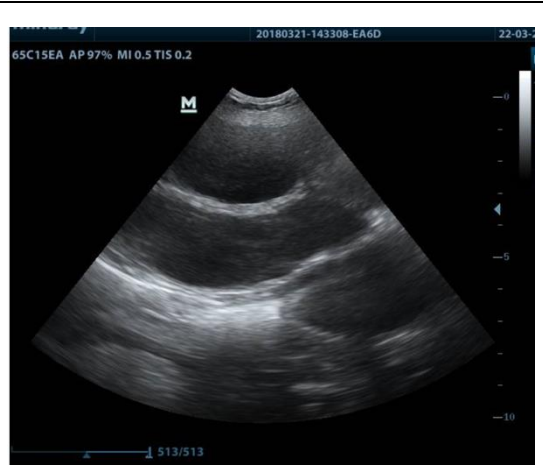
	Tedavi öncesi
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	18.9
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	4.0
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.6
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	16.9
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	4.7
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.2
LY%	24.5
MON%	4.9
NE%	70.5
EO%	6.2
BA%	0.06
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	8.2
HGB g/dl	15.6
HCT%	45
MCV fl	65
MCH pg	22.8
MCHC g/dl	36.8
RDWc%	15.7
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	899
PCT	0.55
MPV	8.5
PDWc	32.7



**Resim 18:** Köpük-Selin, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 29:** Limon, 5 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğin tedavi öncesi alınan hemogram sonuçları


	Tedavi öncesi
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	26.3
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.09
MON 10 <sup>3</sup> /µl	1.07
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	22.57
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.19
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.39
LY%	8
MON%	4.1
NE%	85.8
EO%	0.7
BA%	1.5
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.5
HGB g/dl	15.5
HCT%	38.6
MCV fl	70
MCH pg	28.2
MCHC g/dl	40.2
RDWc%	16.2
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	1665
PCT	0.91
MPV	5.5
PDWc	23.9



**Resim 19:** Limon, 5 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

**Tablo 30:** Tarçın, 7 yaşlı, Cocker ırkı köpeğin tedavi öncesi alınan hemogram sonuçları

	Tedavi öncesi
WBC $10^3/\mu\text{l}$	24.97
LYM $10^3/\mu\text{l}$	2.57
MON $10^3/\mu\text{l}$	0.89
NEU $10^3/\mu\text{l}$	21.31
EOS $10^3/\mu\text{l}$	0.15
BAS $10^3/\mu\text{l}$	0.05
LY%	10.3
MON%	3.6
NE%	85.3
EO%	0.6
BA%	0.2
RBC $10^6/\mu\text{l}$	4.7
HGB g/dl	11.5
HCT%	33.82
MCV fl	72
MCH pg	24.5
MCHC g/dl	34.1
RDWc%	17
PLT $10^3/\mu\text{l}$	273
PCT	0.24
MPV	8.6
PDWc	33.9



**Resim 20:** Tarçın, 7 yaşlı, Cocker ırkı köpeğe ait hastanın, kliniğimize geldiği ilk güne ait ultrasonografi görüntüsü

#### 4.2.5. NK-5.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları

Çalışmanın negatif kontrol grubunu oluşturan 5 sağlıklı köpeğe ait uterus örnekleri, Yıldırım Belediyesi Veteriner İşleri Müdürlüğü Sahipsiz Hayvan Barınağı'na OHE istemiyle getirilen köpeklerden alındı. Merkezde köpeklere hemogram yapılmadığından, genel muayene bulguları, anamnez verileri ve histopatoloji bulgularına göre değerlendirme yapıldı.

#### 4.2.5. CEH-6.Grup Hastalara Ait Hemogram ve Ultrasonografi Sonuçları

CEH-6 grubuna ait hastaların operasyon (tedavi) öncesi hemogram sonuçları, ortalama değerler ve hastaların alt sınır- üst sınır değerleri Tablo 31-32'de verildi.

**Tablo 31:** CEH-6 grubuna ait hastaların operasyon (tedavi) öncesi hemogram sonuçları, ortalama değerler ve hastaların alt sınır- üst sınır değerleri

Parametreler	Referans Aralığı	Ortalama Değer	Alt Sınır / Üst Sınır
		Operasyon Öncesi	Operasyon Öncesi
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	6-17	9.97±3.14	6.3-13.28
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	1-4,8	2.34±1.29	1.22-4.5
MON 10 <sup>3</sup> /µl	0.2-1.5	1.62±0.38	1.03-2.09
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	3-12	6.28±2.18	4.14-9.32
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.8	0.16±0.02	0.12-0.19
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0-0.4	0.04±0.008	0.04-0.06
LY%	12-30	0.2±0.052	0.13-0.26
MON%	2-4	0.13±0.04	0.09-0.21
NE%	62-87	0.66±0.08	0.51-0.75
EO%	0-8	0.68±0.17	0.5-0.9
BA%	0-2	0.34±0.11	0.2-0.5
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	5.5-8.5	6.52±1.15	4.94-7.71
HGB g/dl	12-18	136±23,05	112-169
HCT%	37-55	40.42±7.23	32.8-49.5
MCV fl	60-77	60.62±11.8	42.6-72.6
MCH pg	19.5-24.5	20.5±2.97	16.3-24.7
MCHC g/dl	31-34	338±25.91	321-382
RDWc%		32.14±7.75	20.4-39.2
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	200-500	294.6±108.46	230-421
PCT		2.49±0.65	1.55-3.03
MPV	3.9-11.1	8.82±1.84	7.2-10.5
PDWc		12.4±1.07	11.1-13.5

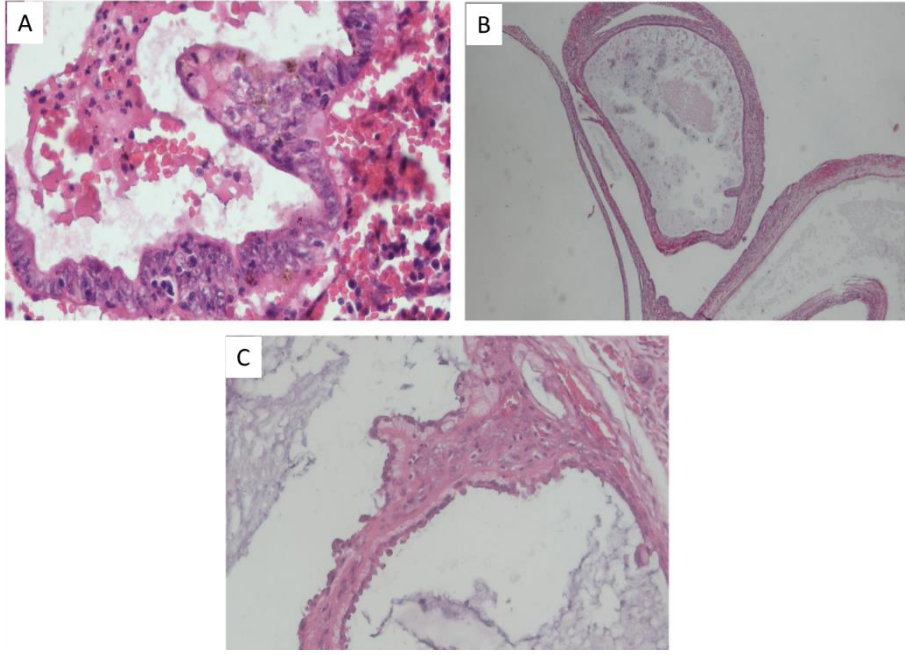
**Tablo 32:** CEH-6 grubuna ait hastaların operasyon (tedavi) öncesi alınan hemogram sonuçları

	Merve Operasyon öncesi	Misha Operasyon öncesi	Juliet Operasyon öncesi	Anıl Operasyon öncesi	Hansel Operasyon öncesi
WBC 10 <sup>3</sup> /µl	8.03	9.04	13.28	6.30	13.21
LYM 10 <sup>3</sup> /µl	2.15	1.22	4.50	1.49	2.37
MON 10 <sup>3</sup> /µl	1.73	1.03	2.09	1.67	1.62
NEU 10 <sup>3</sup> /µl	4.15	6.78	7.02	4.14	9.32
EOS 10 <sup>3</sup> /µl	0.17	0.19	0.12	0.15	0.17
BAS 10 <sup>3</sup> /µl	0.06	0.04	0.05	0.05	0.04
LY%	0.268	0.135	0.222	0.237	0.17
MON%	0.216	0.114	0.098	0.112	0.12
NE%	0.516	0.751	0.680	0.656	0.70
EO%	0.8	0.9	0.7	0.5	0.5
BA%	0.3	0.4	0.3	0.2	0.5
RBC 10 <sup>6</sup> /µl	6.81	5.76	4.94	7.41	7.71
HGB g/dl	169	112	124	150	125
HCT%	49.5	34.8	38.7	46.3	32.8
MCV fl	72.6	60.3	65.1	62.5	42.6
MCH pg	24.7	20.3	20.9	20.3	16.3
MCHC g/dl	341	321	322	324	382
RDWc%	37.4	36.3	39.2	37.4	20.4
PLT 10 <sup>3</sup> /µl	391	230	165	266	421
PCT	3.03	2.96	1.55	2.07	2.86
MPV	9.2	10.5	9.4	7.8	7.2
PDWc	13.2	11.1	12.8	13.5	11.4

#### 4.3. CEH'nin Tanısı, Sınıflandırması ve Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

CEH-P, CEH ve NK'ya dâhil edilen hastaların sınıflandırılması bölüm 3.4'de açıklandığı kriterlere göre yapılmıştır. CEH grubundaki hastaların histopatolojik incelemesinde lamina epitelyalisdeki küboidal hücrelerin, iki-üç katlı epitel hücreleri üreterek lümeneye doğru çıkıntı yaptığı (hiperplazi) gözlenmiştir. Ayrıca benzer oluşumlar lamina propria'nın glandüler epitelinde de gözlenmiştir. Bez lümeninin eozinofilik (proteinöz) sıvı ile dolu kistik yapıda olduğu ve küboidal hücrelerin düzleştiği dikkati çekmiştir. CEH-P grubundaki hastaların kesitlerinde de benzer lezyonların yanı sıra, bez lümenlerinde nötrofil lökosit infiltrasyonları saptanmıştır (Şekil 9).





**Şekil 9:** (A) kistik endometrial hiperplazi-pyometra (CEH-P) (x20 büyütme) ve (B&C) kistik endometriyal hiperplazi (CEH) (x4 büyütme; x20 büyütme) gösteren hematoksilin-eozin (H&E) boyalı kesitler

#### **4.4. Dokudan mRNA İzolasyonu Spektrofotometrik Bulguları**

##### **4.4.1. Trizol Yöntemi ile Elde Edilen İzolasyon Sonuçları**

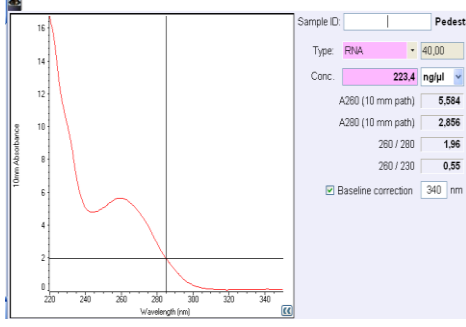
Trizol kullanılarak yapılan mRNA sonuçları, spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Konsantrasyon ve 260/280 nm dalga boylarında ölçümlere ait tablolar ve grafikler aşağıda gösterildi.

##### **4.4.1.1. CEH-P-1.Grup Hastalara Ait Sonuçlar**

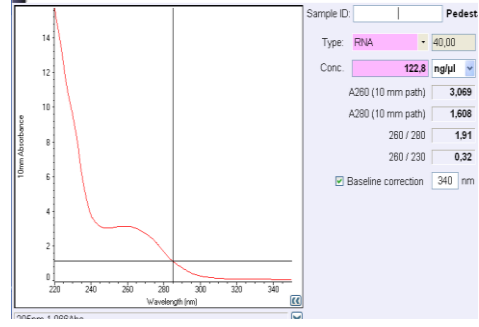
CEH-P-1.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 33 ve Grafik 1-2-3-4-5'de verildi.

**Tablo 33:** CEH-P-1.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları

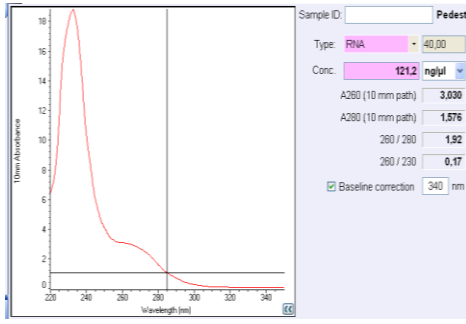
Örnek Adı (CEH-P 1. Grup )	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
Mira	223.4	5.584	2.856	1.96
Ruby	122.8	3.069	1.608	1.91
Leydi	79.8	1.994	1.0141	1.91
Salkım	121.2	3.030	1.576	1.92
Şeker	238.1	5.952	3.029	1.97
<b>Grup Ortalaması ve Standart Sapma</b>	157.06±69.63	3.92±1.74	2.01±0.87	1.98±0.02



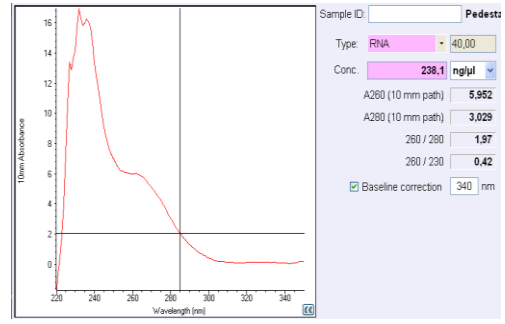
**Grafik 1:** Mira, 7 yaşlı, Chow Chow ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



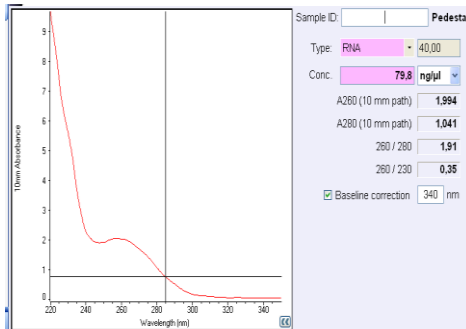
**Grafik 2:** Ruby, 4 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 3:** Salkım, 11 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 4:** Şeker, 9 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



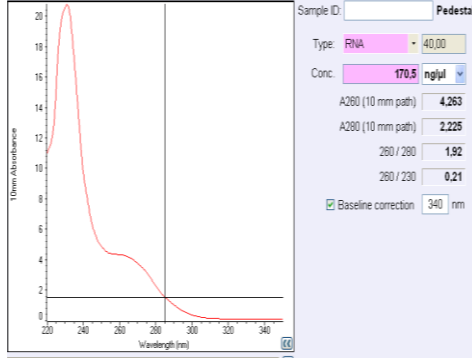
**Grafik 5:** Leydi, 7 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.1.2. CEH-P-2.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

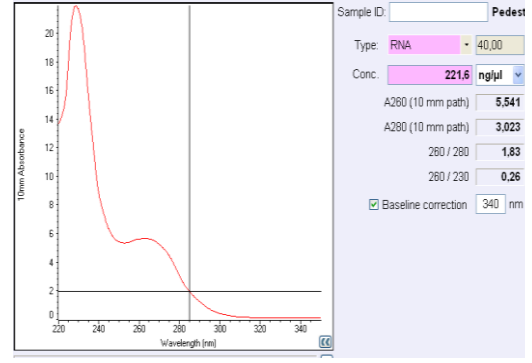
CEH-P-2.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 34 ve Grafik 6-7-8-9’da verildi.

**Tablo 34:** CEH-P-2.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları

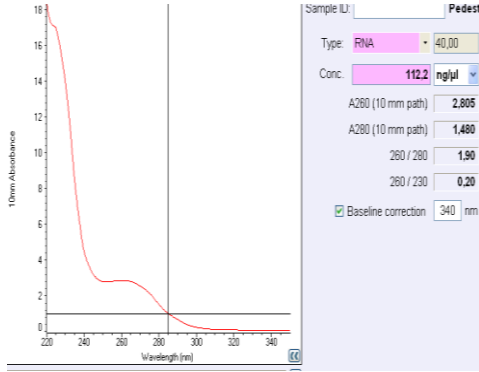
rnek Adı (CEH-P 2. Grup )	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
<b>Köpük</b>	170.5	4.263	2.225	1.92
<b>Daisy</b>	221.6	5.541	3.023	1.83
<b>Pamuk</b>	545.1	13.628	6.889	1.98
<b>Zed</b>	112.2	2.805	1.48	1.9
<b>Bulut</b>	97.9	2.448	1.358	1.80
<b>Grup Ortalaması ve Standart Sapma</b>	229.46±183.18	5.73±4.57	3.18±2.58	1.86±0.07



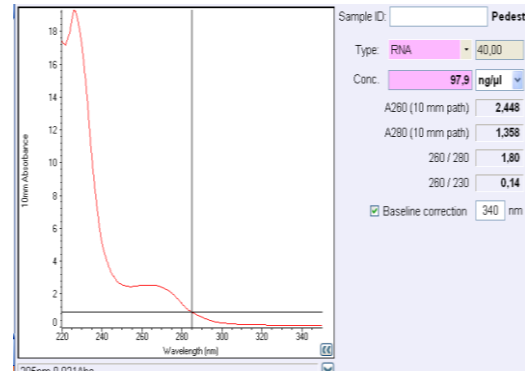
**Grafik 6:** Köpük, 6 yaşlı Labrador ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 7:** Daisy, 7 yaşlı Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 8:** Zed, 5 yaşlı Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



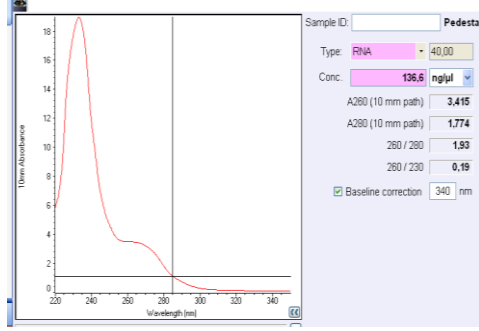
**Grafik 9:** Bulut, 11 yaşlı Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.1.3. CEH-P-3.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

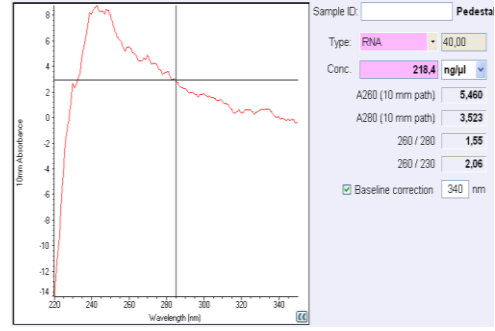
CEH-P-3.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 35 ve Grafik 10-11-12-13-14'de verildi.

**Tablo 35:** CEH-P-3.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları

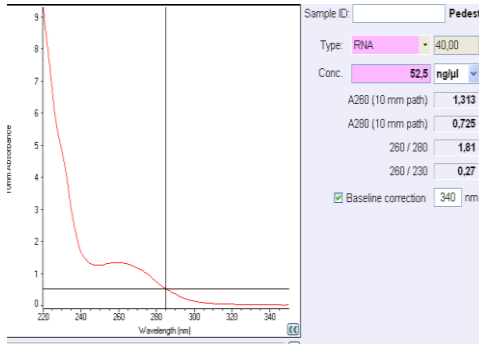
Örnek Adı (CEH-P-3.Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
<b>Kasap</b>	133.6	3.415	1.774	1.93
<b>Bal</b>	218.4	5.460	3.523	1.55
<b>Hira</b>	129.8	3.245	1.652	1.96
<b>Zeyna</b>	52.5	1.313	0.725	1.81
<b>Ateş</b>	268.5	6.712	3.509	1.91
<b>Grup Ortalaması ve Standart Sapma</b>	160.56±84.18	4.02±2.09	2.23±1.23	1.83±0.16



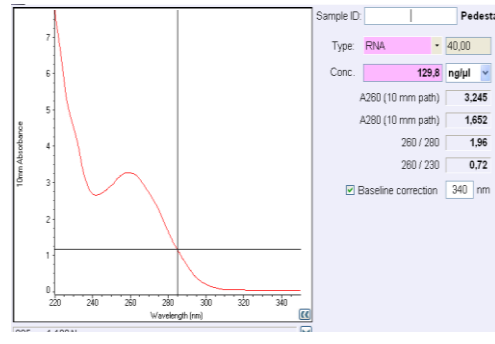
**Grafik 10:** Kasap, 6 yaşlı Kopay ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



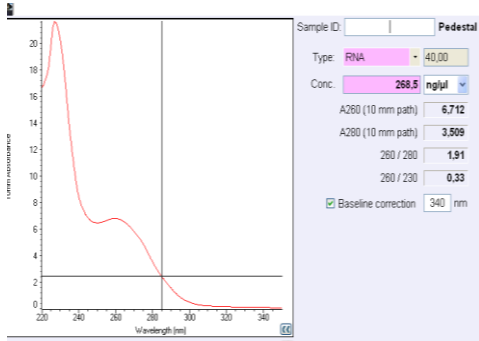
**Grafik 11:** Bal, 8 yaşlı Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 12:** Zeyna, 5 yaşlı Rottweiler ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 13:** Hira, 7 yaşlı Terrier ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



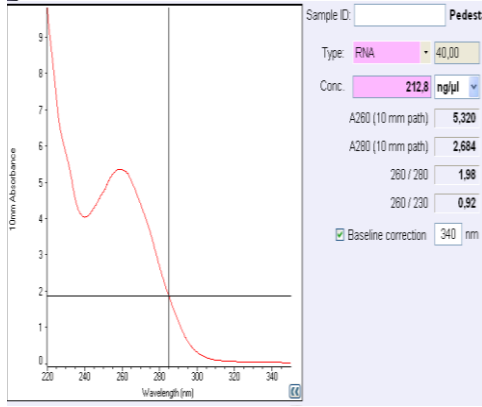
**Grafik 14:** Ateş, 10 yaşlı Cane Corse ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.1.4. CEH-P-4.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

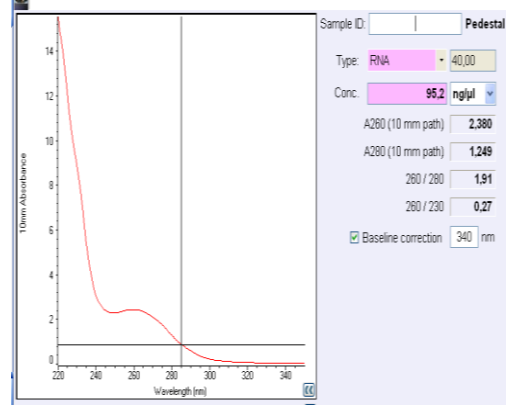
CEH-P-4.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 36 ve Grafik 15-16-17-18-19’da verildi.

**Tablo 36:** CEH-P-4.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları

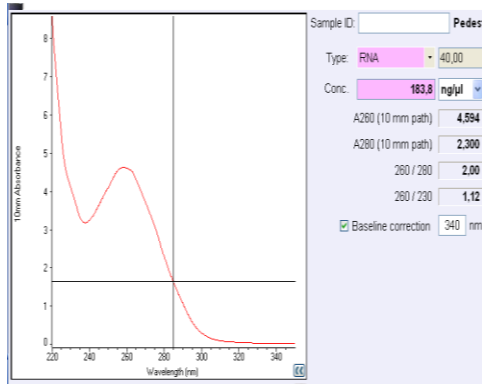
rnek Adı (CEH-P-4.Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
Köpük-Selin	140.7	3.519	1.923	1.83
Limon	181.1	4.726	2.421	1.95
Tarçın	183.3	4.594	2.300	2.0
akıl	95.2	2.380	1.249	1.91
Honey	212.8	5.320	2.684	1.98
Grup Ortalaması ve Standart Sapma	162.62±45.58	4.10±1.16	2.11±0.55	1.93±0.06



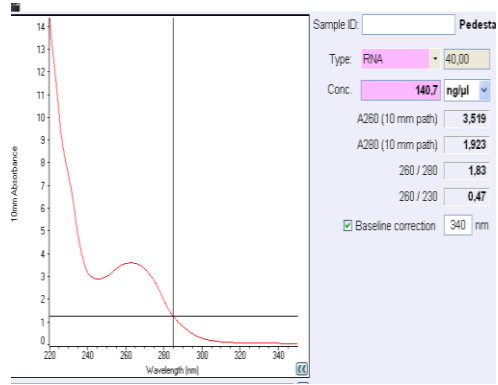
**Grafik 15:** Honey, 5 yaşlı, Kırmızı ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



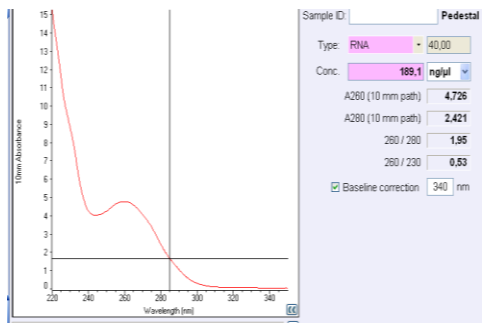
**Grafik 16:** Çakıl, 2 yaşlı, Sibirya Kurdu ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 17:** Tarçın, 7 yaşlı, Cocker ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 18:** Köpük Selin adlı, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 19:** Limon, 5 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

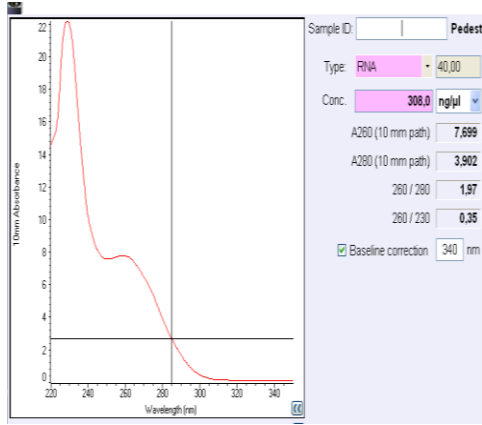


#### 4.4.1.5. NK-5.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

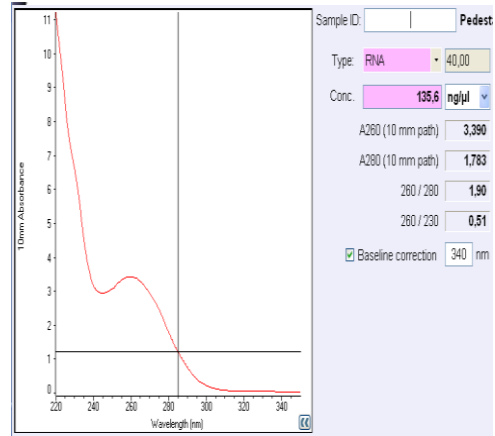
NK-5.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 37 ve Grafik 20-21-22-23-24’de verildi.

**Tablo 37:** NK-5.Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol yöntemi ile elde edilen izolasyon sonuçları

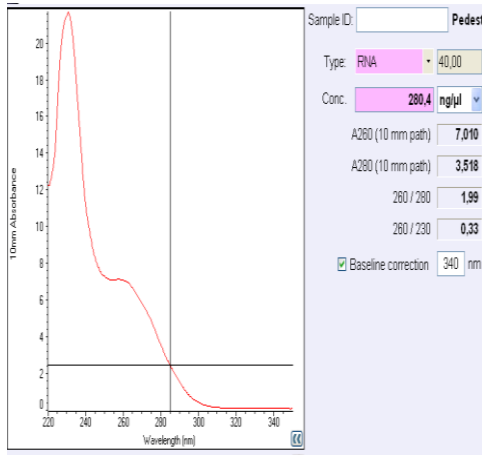
rnek Adı (NK-5.Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
Sağlıklı köpek 1	308	7.699	3.902	1.97
Sağlıklı köpek 2	135.6	3.390	1.783	1.90
Sağlıklı köpek 3	280.4	7.010	3.518	1.99
Sağlıklı köpek 4	178.8	4.471	2.280	1.96
Sağlıklı köpek 5	319.1	7.977	4.274	1.87
<b>Grup Ortalaması ve Standart Sapma</b>	244.38±82.25	6.1±2.05	3.15±1.07	1.93±0.05



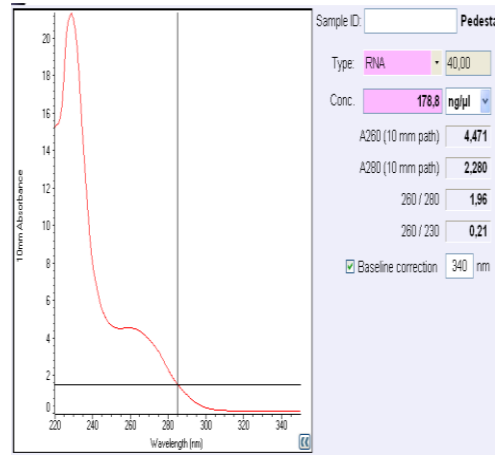
**Grafik 20:** Sağlıklı köpek 1'e ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



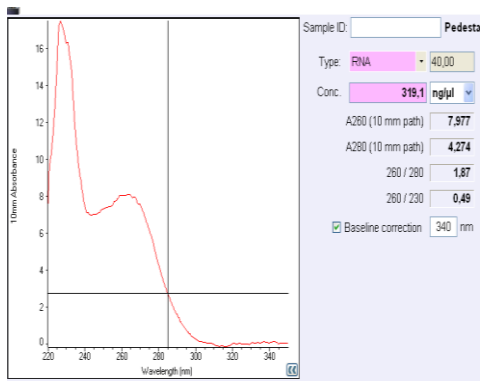
**Grafik 21:** Sağlıklı köpek 2'ye ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 22:** Sağlıklı köpek 3'e ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 23:** Sağlıklı köpek 4'e ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



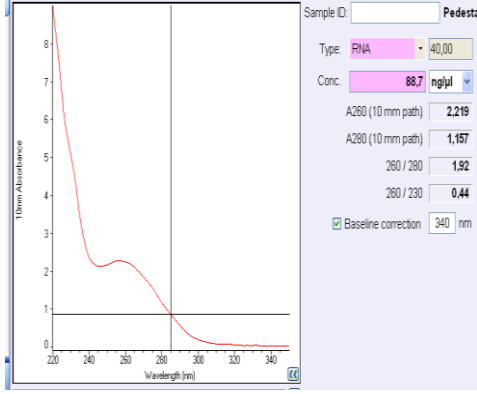
**Grafik 24:** Sağlıklı köpek 5'e ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.1.6. CEH-6.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

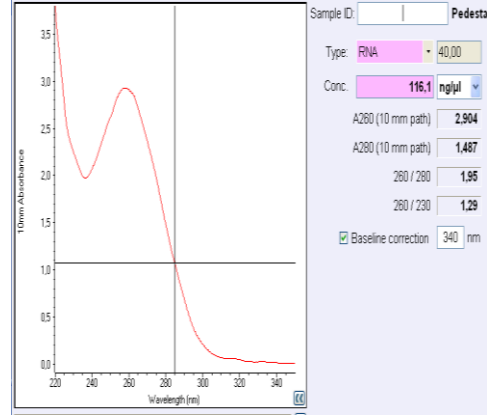
CEH-6 Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 38 ve Grafik 25-26-27-28-29'da verildi.

**Tablo 38:** CEH-6 Grup hastalara ait doku örneklerinden Trizol kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları

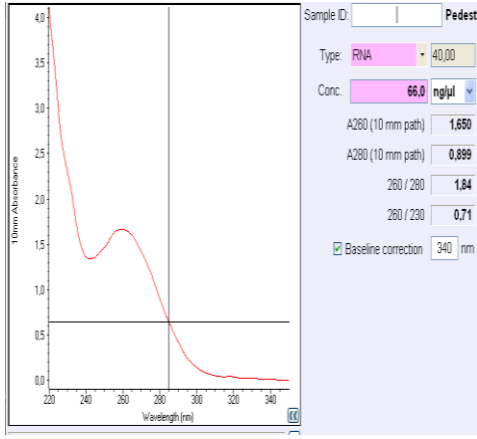
rnek Adı (CEH-6.Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
Merve	66	1.650	0.899	1.84
Misha	61.8	1.544	0.836	1.85
Juilet	116.1	2.904	1.487	1.95
Anıl	80.1	2.003	1.045	1.92
Hansel	78.1	1.953	1.36	1.88
<b>Grup Ortalaması ve Standart Sapma</b>	80.42±21.40	2.01±0.53	1.12±0.28	1.88±0.04



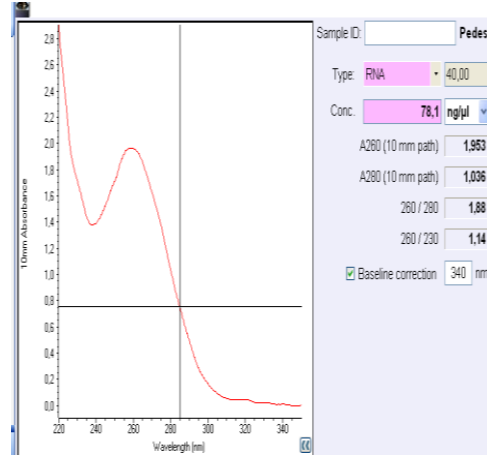
**Grafik 25:** Misha, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



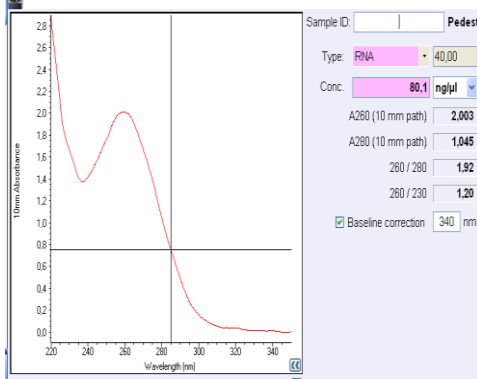
**Grafik 26:** Juliet, 9 yaşlı, Fransız Bulldog ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 27:** Merve, 9 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 28:** Hansel, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 29:** Anıl, 10 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, Trizol kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.2. Ticari Kit (InnuPrep Analytic Jena) Kullanımı ile Elde Edilen İzolasyon Sonuçları

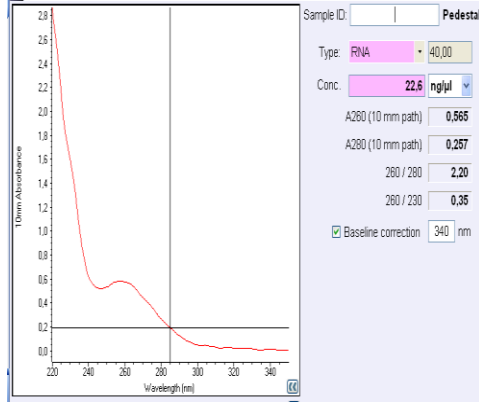
Ticari kit (**InnuPrep Analytic Jena**) kullanılarak yapılan mRNA sonuçları spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Konsantrasyon ve 260/280 nm dalga boylarında ölçümlere ait tablolar ve grafikler aşağıda gösterildi.

##### 4.4.2.1. CEH-P-1.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

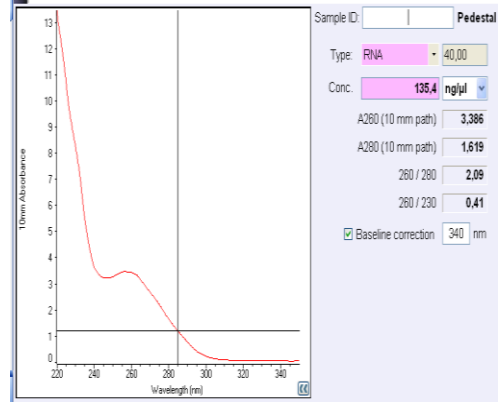
CEH-P-1.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 39 ve Grafik 30-31-32-33-32’de verildi.

**Tablo 39:** CEH-P-1.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları

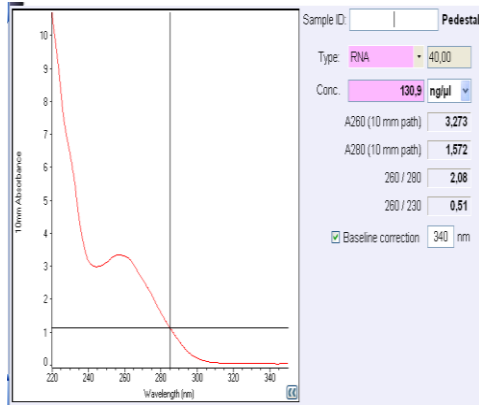
Örnek Adı (CEH-P-1.Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
Leydi	22.6	0.565	0.257	2.20
Mira	135.4	3.386	1.619	2.09
Ruby	130.9	3.273	1.572	2.08
Sakım	45.1	1.128	0.541	2.09
Şeker	141.6	3.539	1.681	2.11
Grup Ortalaması ve Standart Sapma	92.12±56.62	2.37±1.41	1.13±0.67	2.14±0.04



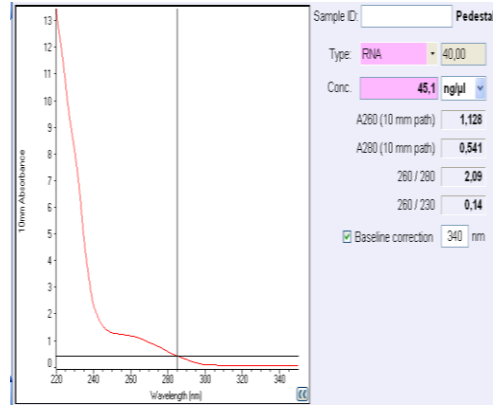
**Grafik 30:** Leydi, 7 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



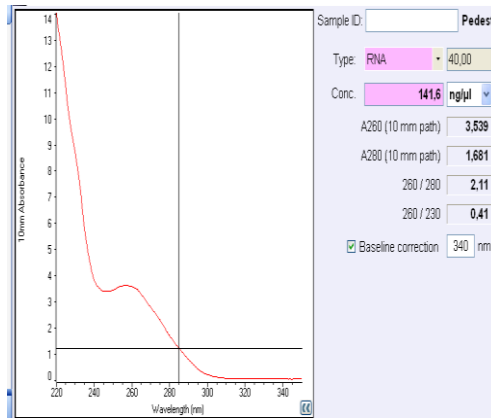
**Grafik 31:** Mira, 7 yaşlı Chow Chow ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 32:** Ruby, 4 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 33:** Salkım, 11 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



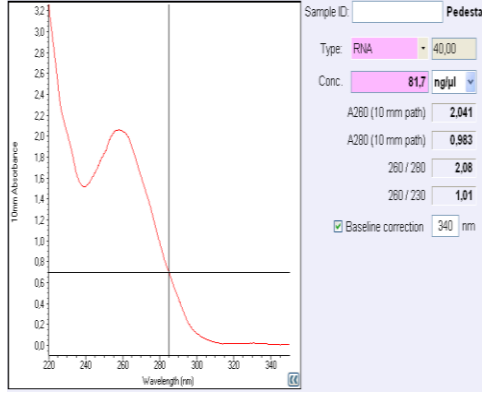
**Grafik 34:** Şeker, 9 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.2.2. CEH-P-2.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

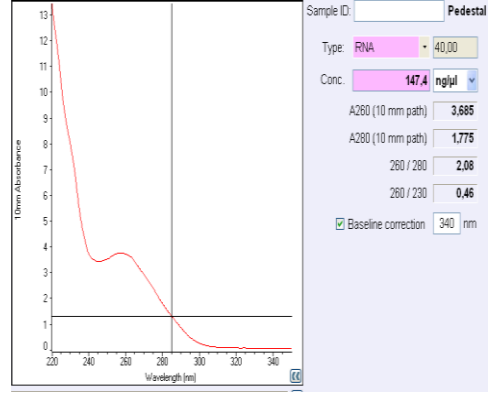
CEH-P-2.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 40 ve Grafik 35-36-37-38’de verildi.

**Tablo 40:** CEH-P-2.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları

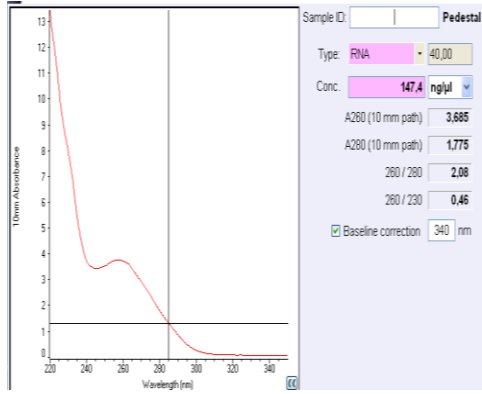
rnek Adı (CEH-P-2.Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
<b>Köpük</b>	51	1.276	0.620	2.03
<b>Daisy</b>	123.9	3.097	1.494	2.07
<b>Pamuk</b>	127.7	3.092	1.48	2.09
<b>Zed</b>	147.4	3.685	1.775	2.08
<b>Bulut</b>	81.7	2.041	0.983	2.08
<b>Grup Ortalaması ve Standart Sapma</b>	106.34±39.11	3±0.96	1.27±0.46	2.07±0.02



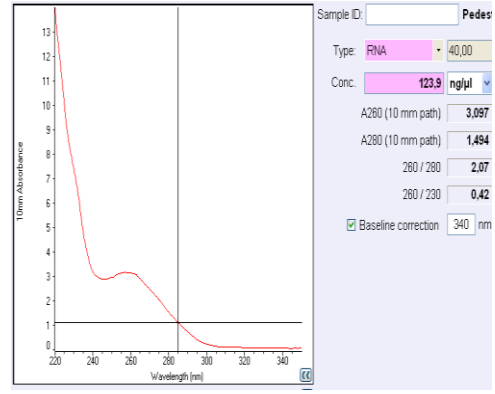
**Grafik 35:** Bulut, 11 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 36:** Pamuk, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 37:** Zed, 5 yaşlı Rottweiler ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 38:** Daisy, 7 yaşlı Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

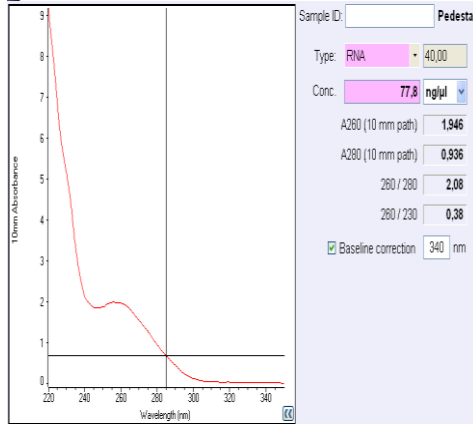


#### 4.4.2.3. CEH-P-3.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

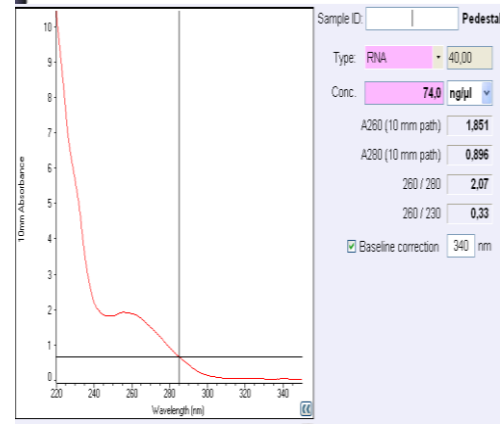
CEH-P-3.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit (innuPrep Analytic Jena) kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 41 ve Grafik 39-40-41-42-43'de verildi.

**Tablo 41:** CEH-P-3.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit (innuPrep Analytic Jena) kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları

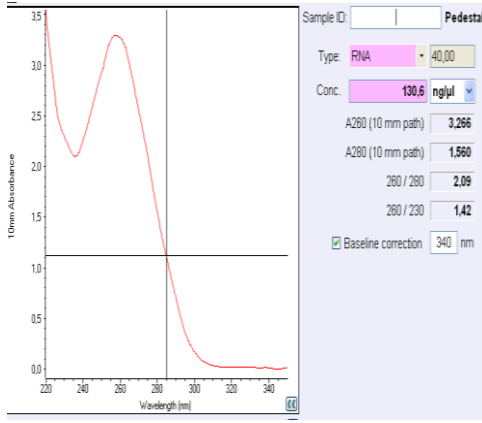
rnek Adı (CEH-P-3. Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
<b>Kasap</b>	26.8	0.670	0.323	2.07
<b>Bal</b>	130.6	3.266	1.560	2.09
<b>Hira</b>	77.8	1.946	0.936	2.08
<b>Zeyna</b>	74	1.851	0.896	2.07
<b>Ateş</b>	58.8	1.471	0.735	2.00
<b>Grup Ortalaması ve Standart Sapma</b>	73.6±37.66	1.84±0.94	0.89±0.44	2.06±0.03



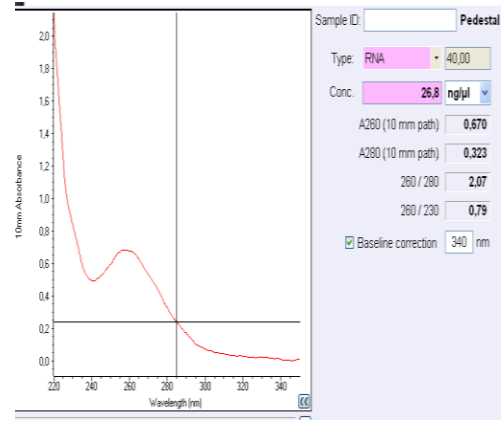
**Grafik 39:** Hira, 7 yaşlı Terrier ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



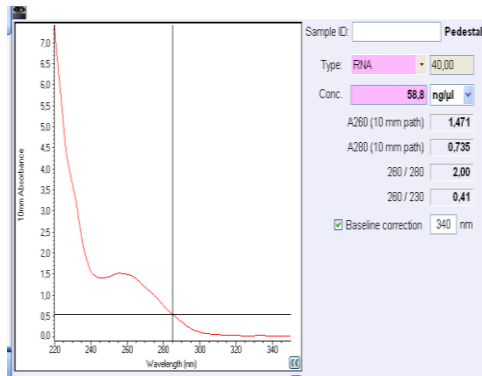
**Grafik 40:** Zeyna, 5 yaşlı Rottweiler ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 41:** Bal, 8 yaşlı Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 42:** Kasap, 6 yaşlı Kopay ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



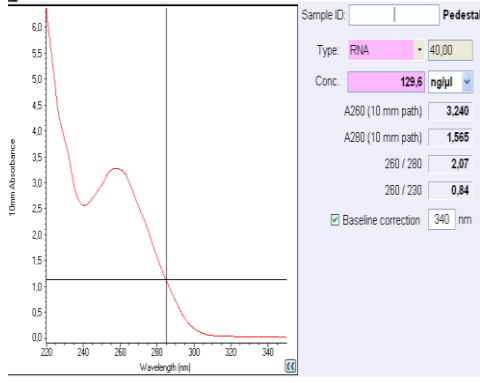
**Grafik 43:** Ateş, 10 yaşlı, Cane Corso ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.2.4. CEH-P-4.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

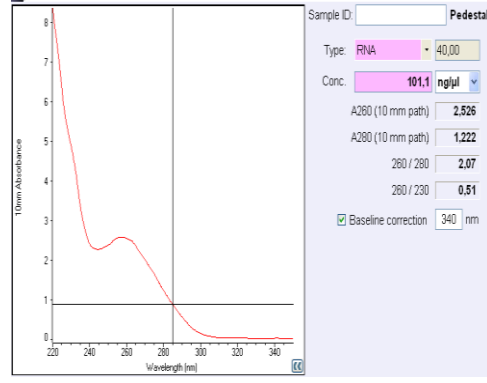
CEH-P-4.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit (innuPrep Analytic Jena) kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 42 ve Grafik 44-45-46-47-48’de verildi.

**Tablo 42:** CEH-P-4.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit (innuPrep Analytic Jena) kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları

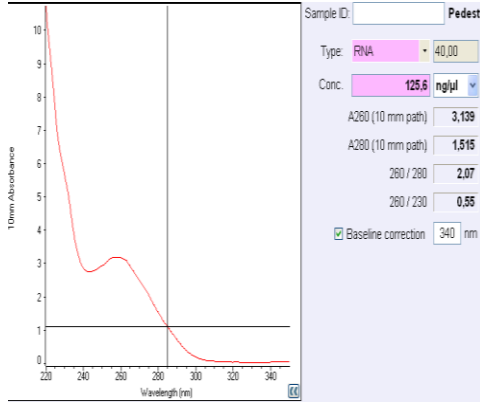
rnek Adı (CEH-P-4.Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
Köpük Selin	115.5	2.888	1.403	2.06
Limon	134.1	3.352	1.613	2.08
Tarçın	125.6	3.139	1.515	2.07
Honey	101.1	2.526	1.222	2.07
akıl	129.6	3.240	1.565	2.07
Grup Ortalaması ve Standart Sapma	121.18±13.16	3.02±0.32	1.46±0.15	2.07±0.07



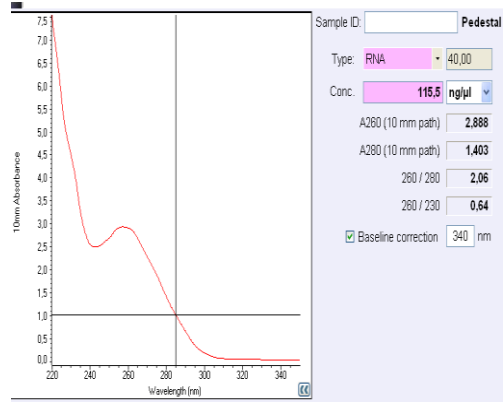
**Grafik 44:** Çakıl, 2 yaşlı, Sibirya Kurdu ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



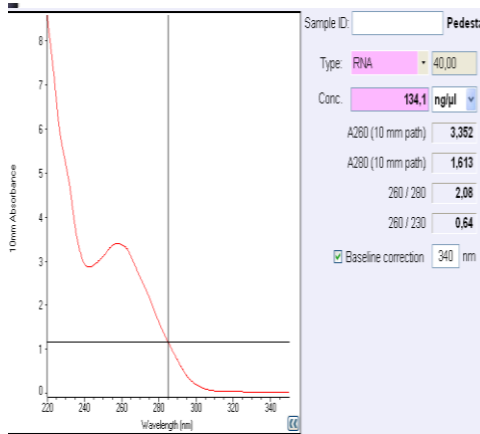
**Grafik 45:** Honey, 5 yaşlı, Kıрма ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 46:** Tarçın, 7 yaşlı, Cocker ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 47:** Köpük Selin, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



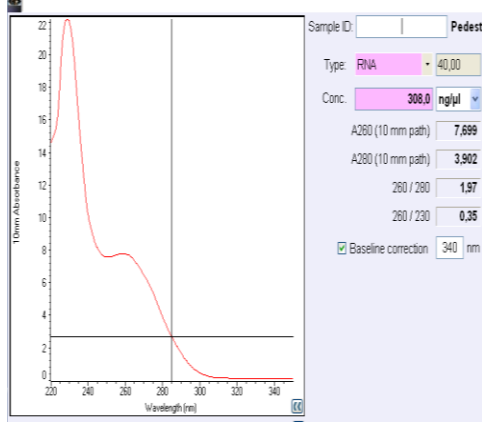
**Grafik 48:** Limon, 5 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.2.5. NK-5.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

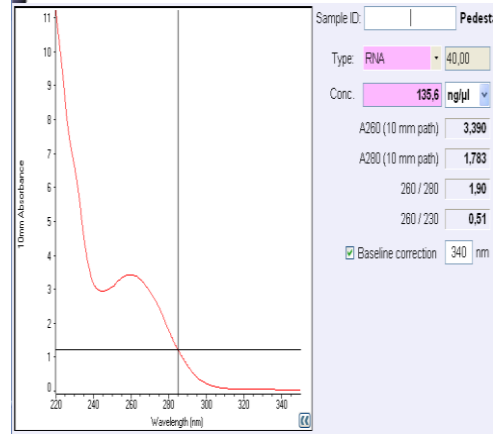
NK-5.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit (innuPrep Analytic Jena) kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 43 ve Grafik 49-50-51-52-53'de verildi.

**Tablo 43:** NK-5.Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit (innuPrep Analytic Jena) kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları

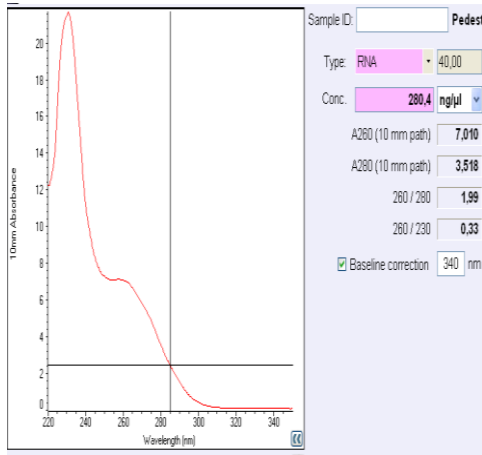
rnek Adı (NK-5.Grup)	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
Sağlıklı köpek 1	308	7.699	3.902	1.97
Sağlıklı köpek 2	135.6	3.390	1.783	1.90
Sağlıklı köpek 3	280.4	7.010	3.518	1.99
Sağlıklı köpek 4	178.8	4.471	2.280	1.96
Sağlıklı köpek 5	319.1	7.977	4.274	1.87
<b>Grup Ortalaması ve Standart Sapma</b>	244.38±82.25	6.1±2.05	3.15±1.07	1.93±0.05



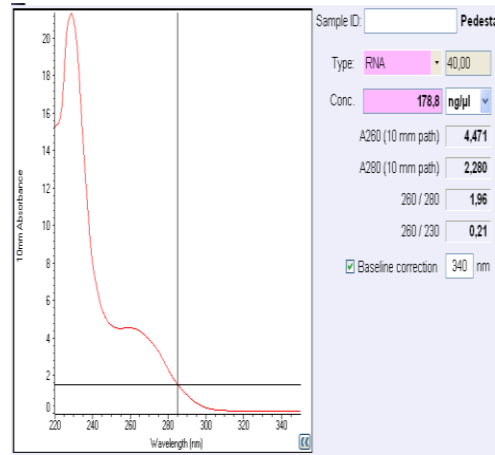
**Grafik 49:** Sağlıklı köpek 1'e ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



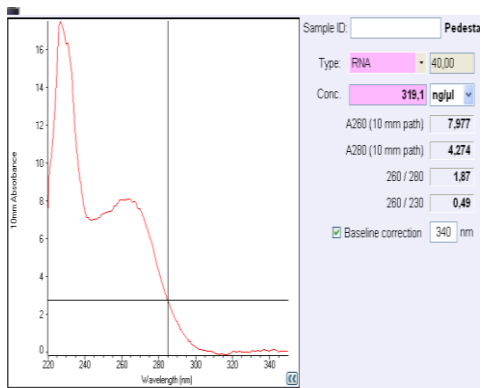
**Grafik 50:** Sağlıklı köpek 2'ye ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 51:** Sağlıklı köpek 3'e ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 52:** Sağlıklı köpek 4'e ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



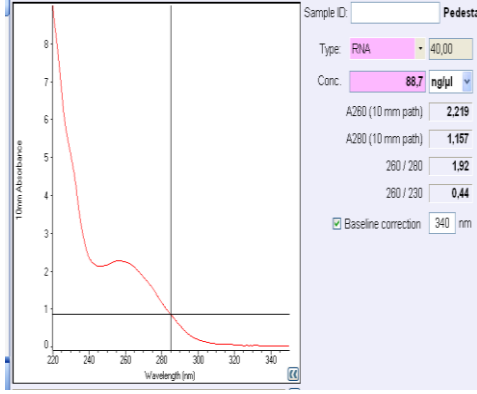
**Grafik 53:** Sağlıklı köpek 5'e ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü

#### 4.4.2.6. CEH-6.Grup Hastalara Ait Sonuçlar

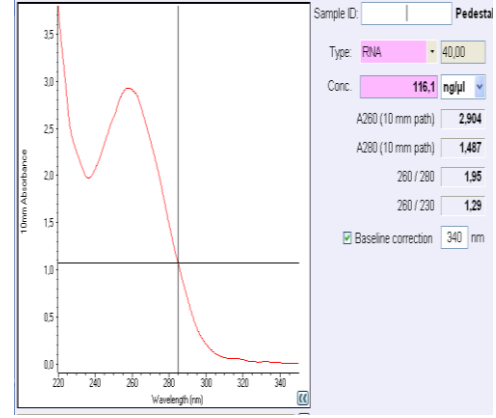
CEH-6. Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit (innuPrep Analytic Jena) kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları Tablo 44 ve Grafik 54-55-56-57-58'de verildi.

**Tablo 44:** CEH-6. Grup hastalara ait doku örneklerinden ticari kit (innuPrep Analytic Jena) kullanımı ile elde edilen izolasyon sonuçları

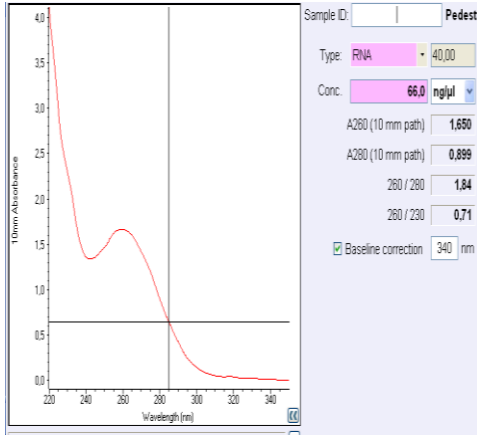
rnek Adı (CEH-6. Grup )	mRNA Konsantrasyonu	260	280	260/280
Merve	66	1.650	0.899	1.84
Misha	61.8	1.544	0.836	1.85
Juilet	116.1	2.904	1.487	1.95
Anıl	80.1	2.003	1.045	1.92
Hansel	78.1	1.953	1.36	1.88
Grup Ortalaması ve Standart Sapma	80.42±21.40	2.01±0.61	1.12±0.28	1.88±0.04



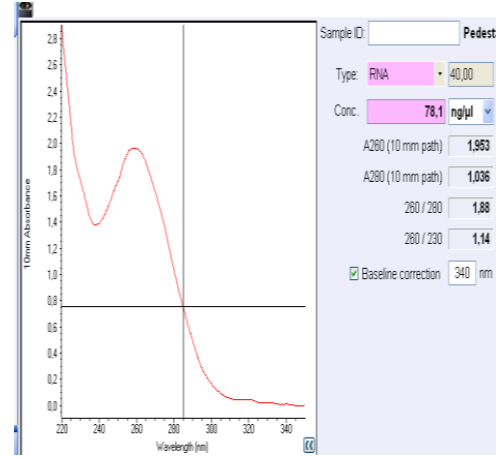
**Grafik 54:** Misha, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



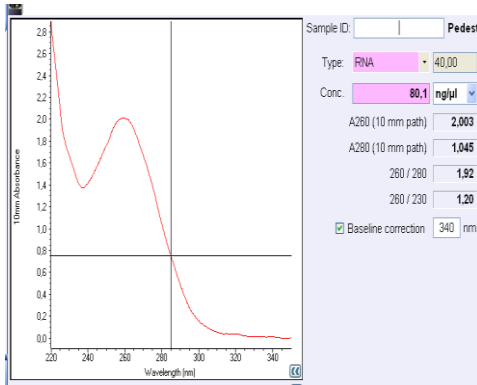
**Grafik 55:** Juliet, 9 yaşlı, Fransız Bulldog ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 56:** Merve, 9 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



**Grafik 57:** Hansel, 8 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



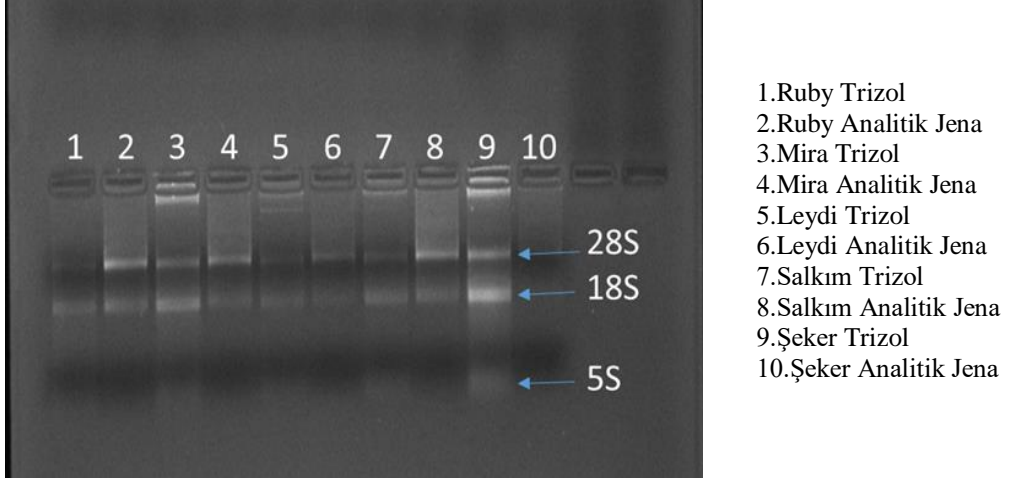
**Grafik 58:** Anıl, 10 yaşlı, Golden Retriever ırkı köpeğe ait doku örneklerinden, ticari kit kullanılarak yapılan izolasyon sonucunun spektrofotometrik görüntüsü



#### 4.5. İzole edilen mRNA'ların Bütünlük Kontrolü (%2'lik agaroz jel)

##### 4.5.1. CEH-P-1. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri

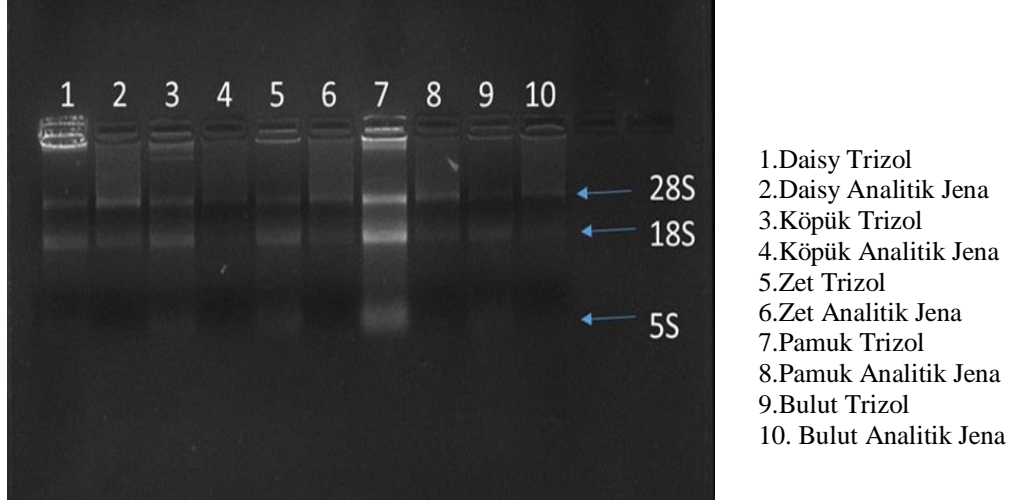
CEH-P-1. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü Resim 21'de verildi.



**Resim 21:** CEH-P-1. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü

##### 4.5.2. CEH-P-2. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri

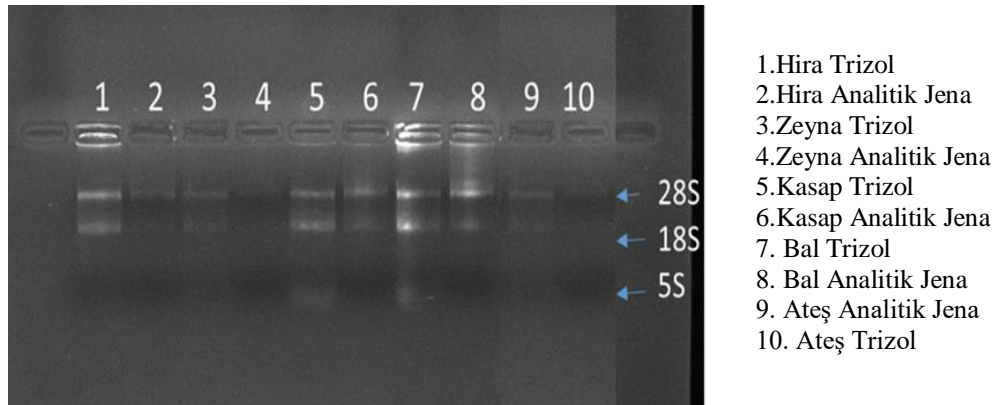
CEH-P-2. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü Resim 22'de verildi.



**Resim 22:** CEH-P-2. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü

#### 4.5.3. CEH-P-3. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri

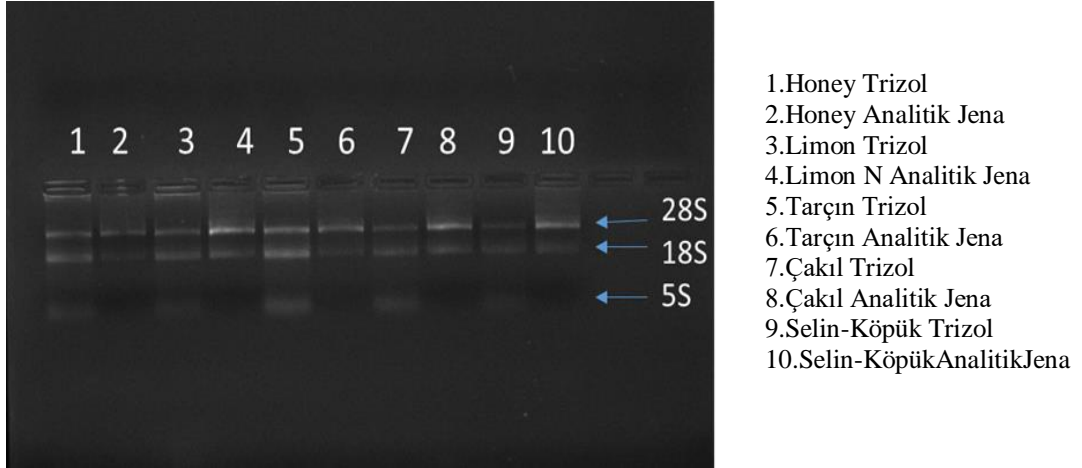
CEH-P-3. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü Resim 23'de verildi.



**Resim 23:** CEH-P-3. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü

#### 4.5.4. CEH-P-4. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri

CEH-P-4. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü Resim 24'de verildi.



**Resim 24:** CEH-P-4. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü

#### 4.5.5. NK-5. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri

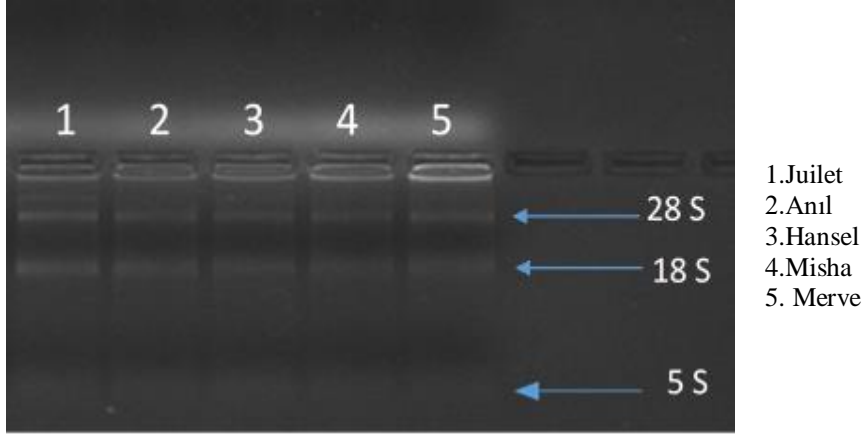
NK-5. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü Resim 25'de verildi.



**Resim 25:** NK-5. Grup hastaların Trizol yöntemiyle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü

#### 4.5.6. CEH-6. Grup Hastalara Ait mRNA Bütünlük Kontrolleri

CEH-6. Grup hastaların iki farklı yöntemle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü Resim 26'de verildi.



**Resim 26:** CEH-6. Grup hastaların Trizol yöntemiyle elde edilen mRNA'larının bütünlük kontrollerine ait jel görüntüsü

#### 4.6. Immunohistokimyasal Sonuçlar

Kesitler, yarı kantitatif olarak ER- $\alpha$  ve PR boyamalarına göre değerlendirildi ve seçilen alanlar fotoğraflandı.

ER ve PR boyamasının HSCORE değerleri yarı kantitatif olarak, hem yoğunluk hem de boyanma dağılımının yüzdesine göre puanlandı. Immunohistokimyasal boyama için x40 büyütmede, üç farklı alan (endometriyal bez, endometriyal bağdoku, myometrium) değerlendirildi. Boyanma yoğunluğuna göre değerlendirmede, pozitif boya alan hücrelerin yüzde oranı ile boyanma yoğunluğu (0=boyama yok, 1=zayıf, 2=orta, 3=güçlü) çarpılarak toplam HSCORE [HSCORE=  $\sum$  (IX PC)] elde edildi.

CEH-P-1. Grup hastalara ait kesitlerde ER boyanma HSCORE değerlerine göre,

Total endometriyal bezlerde; en fazla Salkım'da (HSCORE= 288), en az Leydi'de (HSCORE= 60),

Endometriyal bağ dokusunda; en fazla Salkım (HSCORE= 253.5) ve en az Mira'da (HSCORE= 7.5),

Myometriumda; en fazla Ruby'de (HSCORE= 294), en az Mira'da (HSCORE= 127.5) tespit edildi.

PR boyamasına bakıldığında, her üç boyanma bölgesinde pozitivite veren tek hasta Ruby olduğu görüldü.

CEH-P-2. Grup hastalara ait kesitlerde ER boyanma HSCORE değerlerine göre,

Total endometriyal bezlerde; en fazla Köpük'te (HSCORE=277.5) ve en az Bulut'ta (HSCORE= 101.25),

Endometriyal bağ dokusunda; en fazla Daisy (HSCORE= 230) ve en az Bulut'ta (HSCORE=101.25);

Myometriumda; en fazla Köpük'te (HSCORE= 273), en az boyama ise Zed'te (HSCORE= 191.2) tespit edildi.

PR boyaması bu grupta incelenen hiçbir hastada pozitivite vermedi.

CEH-P-3. Grup hastalara ait kesitlerde ER boyanma HSCORE değerlerine gre,

Total endometriyal bezlerde; en fazla Bal'da (HSCORE=270), en az Kasap'ta (HSCORE= 150),

Endometriyal bağ dokusunda; en fazla Zeyna (HSCORE=300) ve en az Kasap'ta (HSCORE= 142.5),

Myometriumdada; en fazla Zeyna'da (HSCORE= 300), en az boyama ise Kasap'ta (HSCORE= 202.5) tespit edildi.

PR boyaması bu grupta incelenen hiçbir hastada pozitivite vermedi.

CEH-P-4. Grup hastalara ait kesitlerde ER boyanma HSCORE değerlerine gre,

Total endometriyal bezlerde; en fazla Taręın'da (HSCORE=296.25), en az Kpükselin'de (HSCORE= 70),

Endometriyal bağ dokusunda; en fazla Honey (HSCORE=255), en az Limon'da (HSCORE=37.5),

Myometriumdada; en fazla Honey'de (HSCORE=289.75), en az boyama ise Kpükselin'de (HSCORE=206.5) tespit edildi.

PR boyaması bu grupta incelenen hiçbir hastada pozitivite vermedi.

NK-5. Grup hastalara ait kesitlerde ER boyanma HSCORE değerlerine gre,

Total endometriyal bezlerde, endometriyal bağ dokusunda ve myometriumdada tm hastalarda yksek oran (HSCORE=300) tespit edildi.

PR boyaması bu grupta incelenen hiçbir hastada pozitivite vermedi.

CEH-6. Grup hastalara ait kesitlerde ER boyanma HSCORE değerlerine gre,

Total endometriyal bezlerde; en fazla Juliet, Anıl ve Hansel'de (HSCORE= 300), en az Misha'da (HSCORE=160),

Endometriyal bağ dokusunda; en fazla Juliet, Anıl ve Hansel'de (HSCORE=300), en az Misha'da (HSCORE=115),

Myometriumdaki; en fazla Juliet, Misha, Anıl ve Hansel'de (HSCORE=300), en az ise Merve'de (HSCORE=210) tespit edildi.

PR boyaması bu grupta incelenen hiçbir hastada pozitivite vermedi.

Gruplara ait tüm dokularda hesaplanan HSCORE değerleri Tablo 45a ve 45b'de verildi. Endometriyal bezler adı altında, sağlıklı endometriyal ve kistik bezler ile hiperplazi gözlenen yüzey epiteli, diğer hiperplazik alanlar ve kist hiperplazileri ayrıca HSCORE değerlendirilmesine alındı. Gruplar içinde yer alan tüm hastalarda, sağlıklı endometriyal bezlerde, şiddetli ER skoru gözlendi (HSCORE= 300). Ancak endometriyal epitel ve endometriyal bezlerin HSCORE değerlerinin bireyler arasındaki farklılıkları, patolojinin şiddetiyle orantılı olduğu düşünülen, yüzey epitelleri, kistik ve diğer hiperplazik alanların orta, zayıf ya da negatif ER boyanmalarından kaynaklandığı sonucuna varıldı. Bu değerlendirmenin sonuçları Tablo 46a ve 46b'de detaylı verildi.

**Tablo 45a:** Endometriyum (Endometriyal bez/Bağ doku) ve myometriyuma ait bölgelerin ER/PR boyamalarının HSCORE değerleri

		<b>BOYANMA BÖLGELERİ</b>					
		<b>Endometriyum (Endometriyal bez)</b>		<b>Endometriyum (Bağdoku)</b>		<b>Myometrium</b>	
		<b>ER</b>	<b>PR</b>	<b>ER</b>	<b>PR</b>	<b>ER</b>	<b>PR</b>
<b>CEH-P-1.GRUP</b>	Salkım	288	-	253.5	-	257.5	-
	Şeker	257.5	-	13.5	-	287.25	-
	Ruby	266.25	133.625	206.25	4.25	294	10
	Leydi	60	-	234	-	261	-
	Mira	270	-	7.5	-	127.5	-
	<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>288.35</b>	<b>26.725</b>	<b>142.95</b>	<b>0.85</b>	<b>245.45</b>
<b>CEH-P-2.GRUP</b>	Daisy	236.25	-	230	-	264.25	-
	Köpük	277.5	-	170	-	273	-
	Bulut	101.25	-	101.25	-	246	-
	Pamuk	266.25	-	150	-	262.5	-
	Zed	191.25	-	191.25	-	191.25	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>215.5</b>	<b>-</b>	<b>162.5</b>	<b>-</b>	<b>266.9</b>	<b>-</b>
<b>CEH-P-3.GRUP</b>	Kasap	150	-	142.5	-	202.5	-
	Hira	243.75	-	266.25	-	281.25	-
	Bal	270	-	180	-	297	-
	Zeyna	210	-	300	-	300	-
	Ateş	187.5	-	183.75	-	232.5	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>212.25</b>	<b>-</b>	<b>214.5</b>	<b>-</b>	<b>261.65</b>	<b>-</b>



**Tablo 45b:** Endometriyum (Endometrial bez/Bağ doku) ve myometriyuma ait bölgelerin ER/PR boyamalarının HSCORE değerleri

		BOYANMA BÖLGELERİ					
		Endometrium (Endometrial bez)		Endometrium (Bağdoku)		Myometrium	
		ER	PR	ER	PR	ER	PR
CEH-P- 4.GRUP	Limon	186.25	-	37.5	-	248.625	-
	Çakıl	206.25	-	75	-	268.5	-
	Tarçın	296.25	-	91	-	280.5	-
	Köpük selin	70	-	207.5	-	206.5	-
	Honey	276.75	-	255	-	289.725	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>207.1</b>	<b>-</b>	<b>127.2</b>	<b>-</b>	<b>258.725</b>	<b>-</b>
NK-5.GRUP	Sağlıklı Köpek 1	300	-	300	-	300	-
	Sağlıklı Köpek 2	300	-	300	-	300	-
	Sağlıklı Köpek 3	300	-	300	-	300	-
	Sağlıklı Köpek 4	300	-	300	-	300	-
	Sağlıklı Köpek 5	300	-	300	-	300	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>300</b>	<b>-</b>	<b>300</b>	<b>-</b>	<b>300</b>	<b>-</b>
CEH- 6.GRUP	Juilet	300	-	300	-	300	-
	Misha	160	-	115	-	300	-
	Merve	180	-	138	-	210	-
	Anıl	300	-	300	-	300	-
	Hansel	300	-	300	-	300	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>248</b>	<b>-</b>	<b>230.6</b>	<b>-</b>	<b>282</b>	<b>-</b>

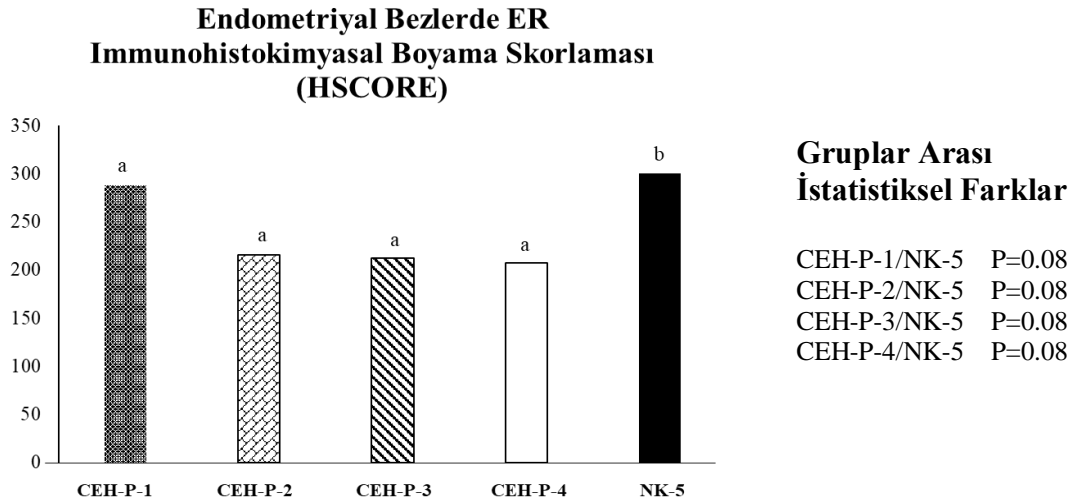
**Tablo 46a:** Yüzey Epiteli, kistik bezler, hiperplazik alanlar ve endometriyal bezlere ait bölgelerin ER/PR boyamalarının HSCORE değerleri

		Yüzey Epiteli		Kistik Bezler		Hiperplazik Alanlar		Endometriyal Bezler	
		ER	PR	ER	PR	ER	PR	ER	PR
CEH-P- 1.GRUP	Salkım	70	-	200	-	80	-	300	-
	Şeker	50	-	200	-	40	-	300	-
	Ruby	80	-	200	-	50	-	300	-
	Leydi	120	-	200	-	60	-	300	-
	Mira	80	-	200	-	50	-	300	-
	<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>80</b>	<b>-</b>	<b>200</b>	<b>-</b>	<b>56</b>	<b>-</b>	<b>300</b>
CEH-P- 2.GRUP	Daisy	160	-	40	-	20	-	300	-
	Köpük	270	-	160	-	100	-	300	-
	Bulut	180	-	60	-	0	-	300	-
	Pamuk	160	-	160	-	100	-	300	-
	Zed	180	-	100	-	30	-	300	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>190</b>	<b>-</b>	<b>104</b>	<b>-</b>	<b>50</b>	<b>-</b>	<b>300</b>	<b>-</b>
CEH-P- 3.GRUP	Kasap	150	-	50	-	0	-	300	-
	Hira	300	-	180	-	30	-	300	-
	Bal	180	-	160	-	50	-	300	-
	Zeyna	160	-	30	-	10	-	300	-
	Ateş	150	-	30	-	0	-	300	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>188</b>	<b>-</b>	<b>90</b>	<b>-</b>	<b>18</b>	<b>-</b>	<b>300</b>	<b>-</b>

**Tablo 46b:** Yüzey Epiteli, Kistik Bezler, Hiperplazik alanlar ve endometriyal bezlere ait bölgelerin ER/PR boyamalarının HSCORE değerleri

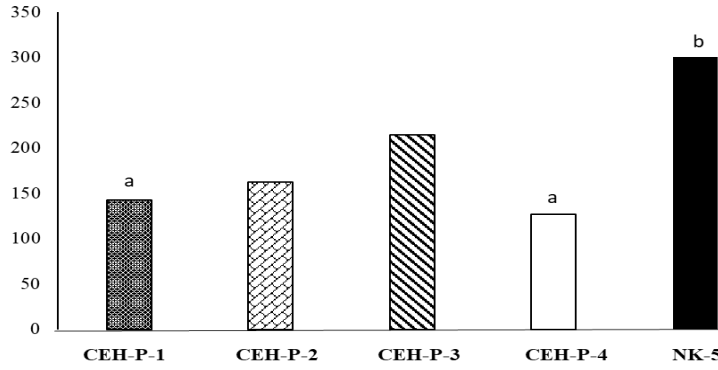
		Yüzey Epiteli		Kistik Bezler		Hiperplazik Alanlar		Endometriyal Bezler	
		ER	PR	ER	PR	ER	PR	ER	PR
CEH-P- 4.GRUP	Limon	120	-	140	-	0	-	300	-
	Çakıl	0	-	40	-	0	-	300	-
	Tarçın	20	-	300	-	0	-	300	-
	Köpük selin	100	-	40	-	20	-	300	-
	Honey	160	-	180	-	20	-	300	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>80</b>	-	<b>140</b>	-	<b>8</b>	-	<b>300</b>	-
NK- 5.GRUP	Sağlıklı Köpek 1	300	-	-	-	-	-	300	-
	Sağlıklı Köpek 2	300	-	-	-	-	-	300	-
	Sağlıklı Köpek 3	300	-	-	-	-	-	300	-
	Sağlıklı Köpek 4	300	-	-	-	-	-	300	-
	Sağlıklı Köpek 5	300	-	-	-	-	-	300	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>300</b>	-	-	-	-	-	<b>300</b>	-
CEH- 6.GRUP	Juilet	250	-	200	-	200	-	300	-
	Misha	20	-	20	-	0	-	300	-
	Merve	0	-	300	-	300	-	300	-
	Anıl	0	-	80	-	0	-	300	-
	Hansel	120	-	240	-	240	-	300	-
<b>GRUP ORTALAMASI</b>		<b>78</b>	-	<b>168</b>	-	<b>148</b>	-	<b>300</b>	-

Endometriyal bezler, endometriyal bağdoku ve myometriyum ER immunohistokimyasal değerlendirmesi iki yönlü yapıldı. Sağlıklı beş köpeğe ait veriler (NK-5) ve farklı günlerde aglepriston uygulaması yapılarak gruplanan (CEH-P-1, CEH-P-2, CEH-P-3) ve aglepriston yapılmayan (CEH-P-4) hastalarda, adı geçen reseptörün boyanma seviyesi karşılaştırıldı. İstatistiksel değerlendirmede her üç bölgenin boyanma skorları, kontrol grubuna göre farklı bulundu (endometriyal bezler P=0.017; endometriyal bağdoku P=0.020; myometriyum P=0.021). Bu verilerin detayları grafik 59, 60, 61’de verildi.



**Grafik 59:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların endometriyal bezlerinde ER immunohistokimyasal boyanma skoruması. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

### Endometriyal Bağdokuda ER Immunohistokimyasal Boyama Skorlaması (HSCORE)

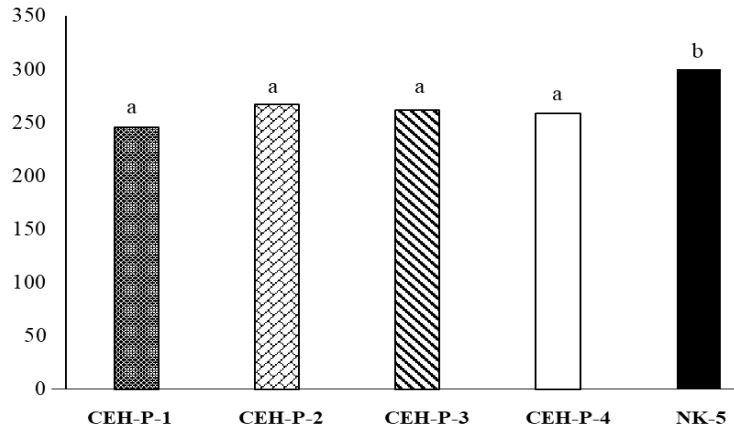


#### Gruplar Arası İstatistiksel Farklar

CEH-P-1/NK-5 P=0.39  
CEH-P-4/NK-5 P=0.02

**Grafik 60:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların endometriyal bağdokuda ER immunohistokimyasal boyanma skorlaması. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

### Myometriumda ER Immunohistokimyasal Boyama Skorlaması (HSCORE)



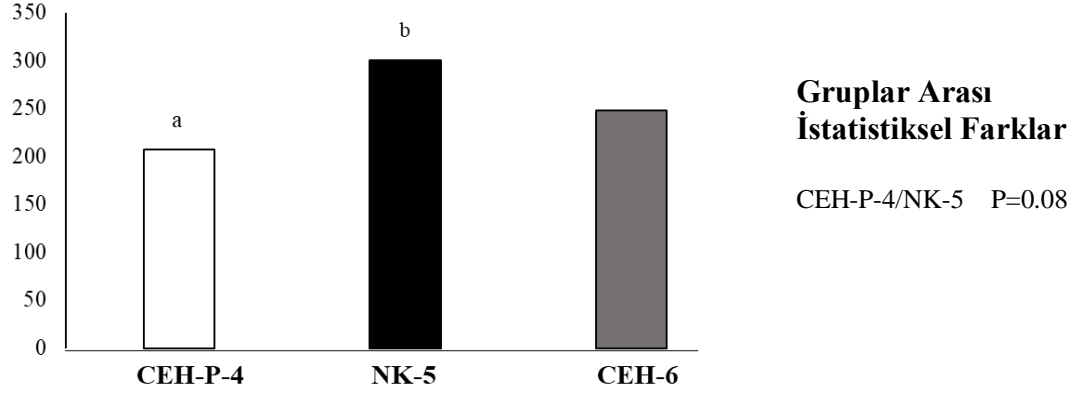
#### Gruplar Arası İstatistiksel Farklar

CEH-P-1/NK-5 P=0.08  
CEH-P-2/NK-5 P=0.08  
CEH-P-3/NK-5 P=0.32  
CEH-P-4/NK-5 P=0.08

**Grafik 61:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların myometriumda ER immunohistokimyasal boyanma skorlaması. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

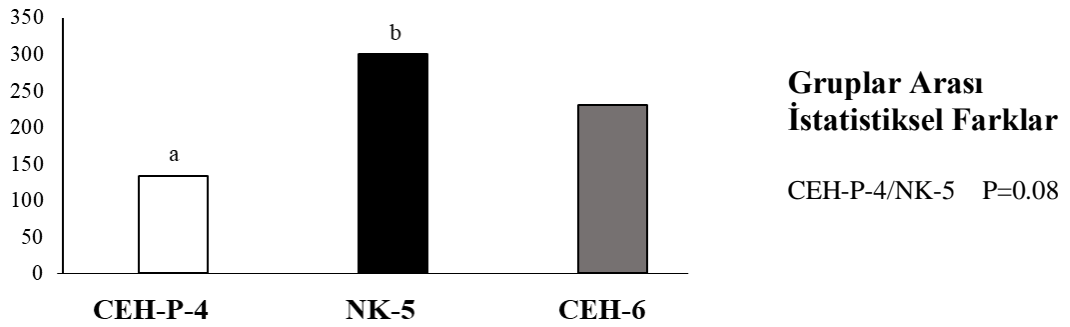
Gruplar arasında farkın sadece sağlıklı uterusu göre bulunmasından dolayı, ER reseptör boyanma skorlaması CEH-P-4, NK-5, CEH-6 arasında tekrar yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede her üç bölgenin boyanma skorları arasında fark bulundu (endometriyal bezler P=0.030; endometriyal bağdokusu P=0.011; myometrium P=0.011). Bu verilerin detayları grafik 62, 63, 64'de verildi.

### Endometriyal Bezlerde ER İmmunohistokimyasal Skorlaması (HSCORE)



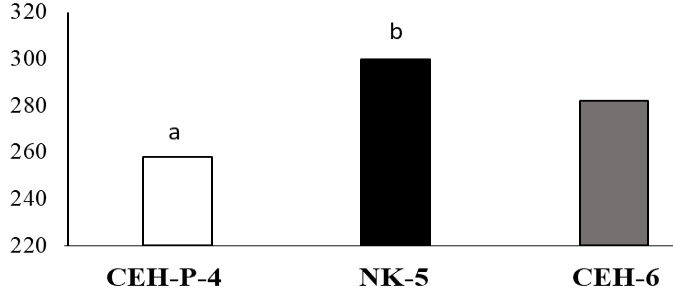
**Grafik 62:** Üç gruba ait hastaların endometriyal bezlerindeki ER immunohistokimyasal boyanma skorlaması. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

### Endometriyal Bağdokuda ER İmmunohistokimyasal Skorlaması (HSCORE)



**Grafik 63:** Üç gruba ait hastaların endometriyal bağ dokuda ER immunohistokimyasal boyanma skorlaması. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

**Myometriumdaki ER  
İmmünohistokimyasal Skoruması  
(HSCORE)**



**Gruplar Arası  
İstatistiksel Farklar**

CEH-P-4/NK-5 P=0.08

**Grafik 64:** Üç gruba ait hastaların myometriumdaki ER immünohistokimyasal boyanma skoruması. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

#### 4.6.1. CEH-P-1. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar

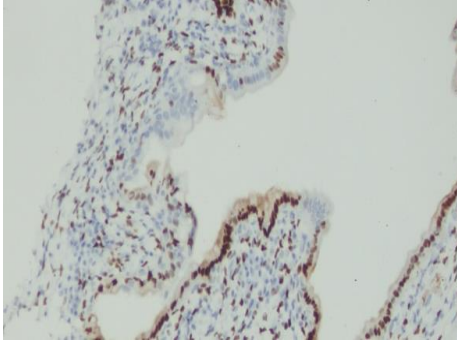
Tüm gruplarda ER boyanma Őiddetinin değerlendirilmesini anlaşılır hale getirmek için Tablo 47'den yararlanıldı.

**Tablo 47:** İmmunohistokimyasal değerlendirme reseptör boyanma Őiddeti ve yoğunluğun skorlanması

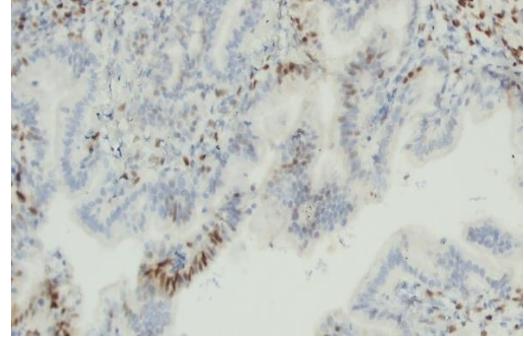
Boyanma yok	Hafif Şiddetli	Orta Şiddetli	Şiddetli
0	1-100	101-200	201-300

CEH-P-1. gruba ait immunohistokimyasal sonuçlar Şekil 10-11-12-13-14-15'de verildi.

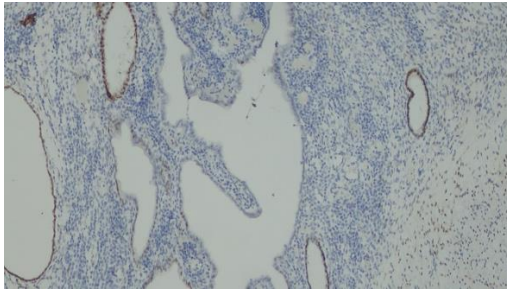




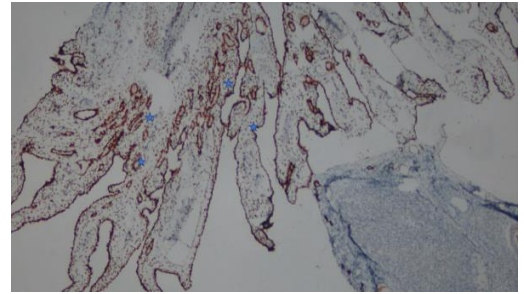
**Şekil 10:** Salkım, Endometriyum epiteline ait hiperlazik alanlarda ER (-), DAB, x20



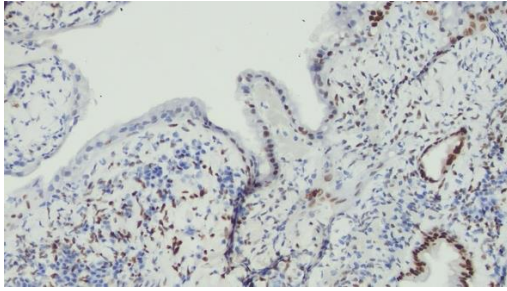
**Şekil 11:** Ruby, Endometriyum epiteline ait hiperlazik alanlarda ER (-), DAB, x20



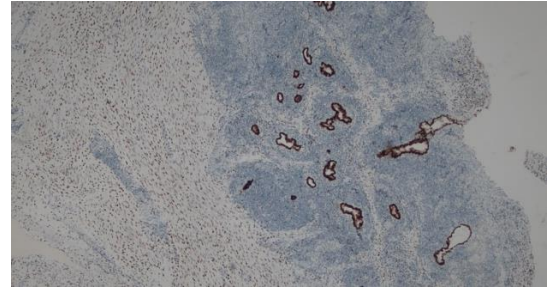
**Şekil 12:** Şeker, Endometriyum epiteline ait kistik bezlerde orta şiddetli ER boyaması, hiperlazik alanlarda ER (-), DAB, x10



**Şekil 13:** Mira, Endometriyal bezlerde şiddetli ER (+) (yıldız), DAB, x4



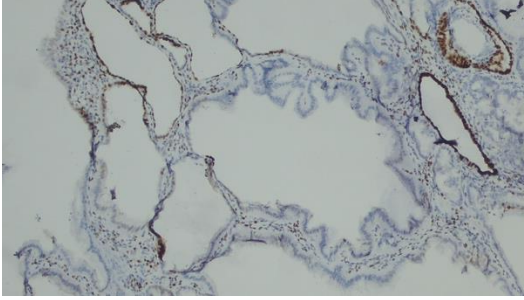
**Şekil 14:** Leydi, Endometriyum epiteline ait hiperlazik alanlarda zayıf ER boyaması, kistik alanlar orta şiddetli ER boyaması, DAB, x20



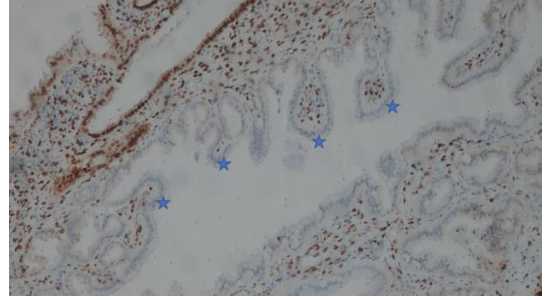
**Şekil 15:** Şeker, Endometriyal bezlerde şiddetli ve myometriyum şiddetli ER (+), DAB, x4

#### 4.6.2. CEH-P-2. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar

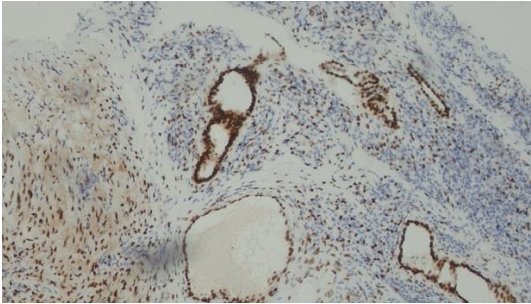
CEH-P-2. gruba ait immunohistokimyasal sonuçlar Şekil 16-17-18-19-20'de verildi.



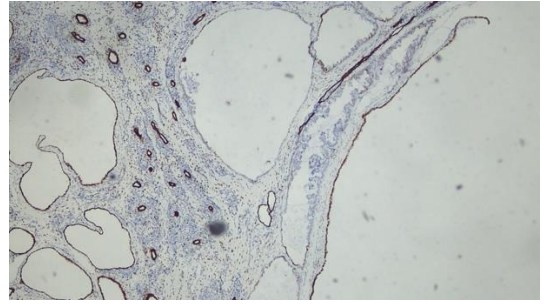
**Şekil 16:** Bulut, Endometriyum epiteline ait kistik bezlerde ve hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), endometriyal bezlerde şiddetli ER boyaması, DAB, x10



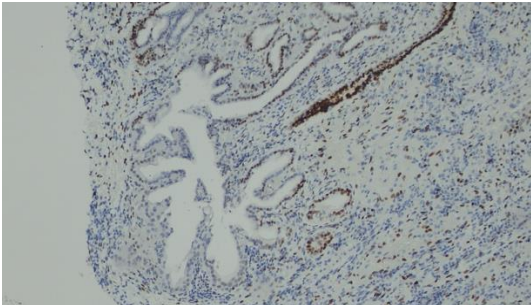
**Şekil 17:** Daisy, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), DAB, x4



**Şekil 18:** Köpük, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlar az şiddetli ER boyaması, Endometriyal bezlerde şiddetli ER boyaması, Kistik bezlerde orta şiddetli ER boyaması, myometriyum şiddetli ER boyaması, DAB, x10



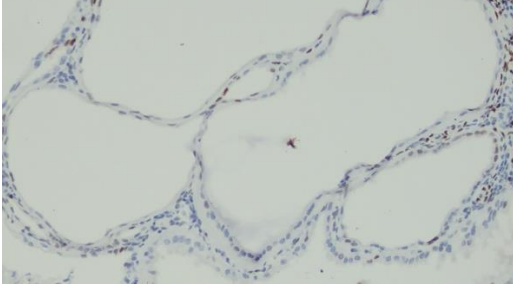
**Şekil 19:** Pamuk, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), Kistik bezlerde hafif şiddetli ER boyaması, Normal bez epitelleri şiddetli ER boyaması, DAB, x4



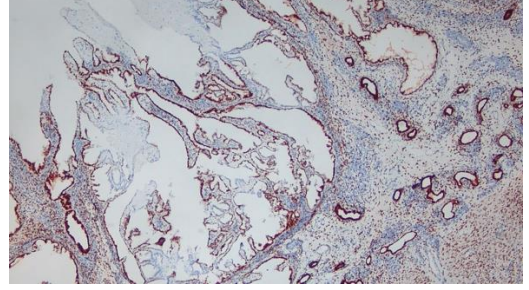
**Şekil 20:** Zed, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), Kistik bezlerde hafif şiddetli ER boyaması, Normal bez epitelleri şiddetli ER boyaması, DAB, x10

#### 4.6.3. CEH-P-3. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar

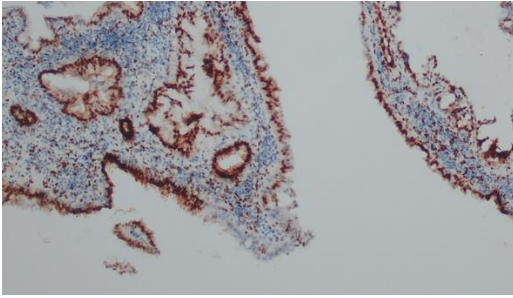
CEH-P-3. gruba ait immunohistokimyasal sonuçlar Şekil 21-22-23-24-25'de verildi.



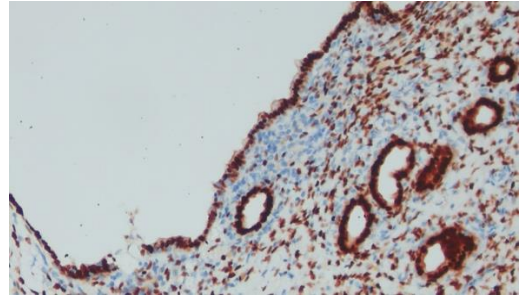
**Şekil 21:** Kasap, Endometriyum epiteline ait kistik bezlerde ve hiperplazik alanlarda ER boyaması (-),DAB, x20



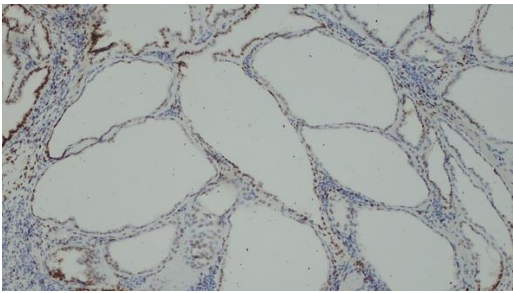
**Şekil 22:** Bal, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanların bazı bölgelerinde ER boyaması (+), myometriyumda şiddetli ER boyaması, DAB, x4



**Şekil 23:** Hira, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), Kistik bezlerin bazı bölgelerinde şiddetli ER boyaması, yüzey epitellerinde şiddetli ER boyaması, DAB, x10



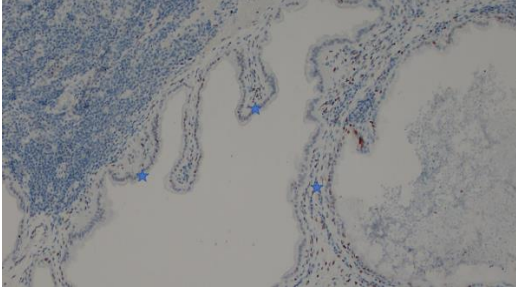
**Şekil 24:** Zeyna, Endometriyal bezlerde şiddetli ER boyaması, yüzey epitellerinde şiddetli ER boyaması, DAB, x20



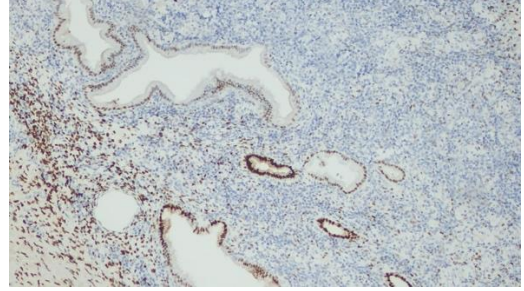
**Şekil 25:** Ateş, Endometriyum epiteline ait kistik bezlerde hafif şiddetli ER boyaması, hiperplazik alanlarda hafif şiddetli ER boyaması, DAB, x10

#### 4.6.4. CEH-P-4. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar

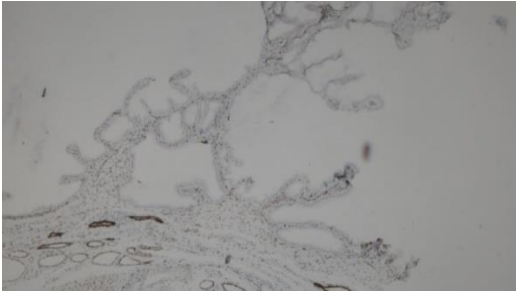
CEH-P-4. gruba ait immunohistokimyasal sonuçlar Şekil 26-27-28-29-30'da verildi.



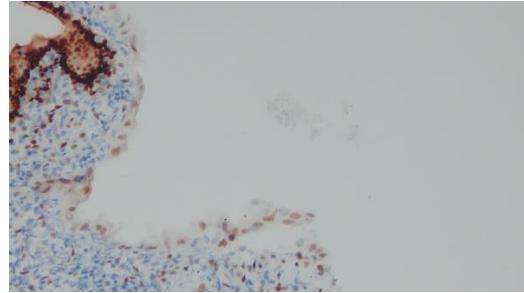
**Şekil 26:** Çakıl, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanların bazı bölgelerinde hafif şiddetli ER boyaması, DAB, x4



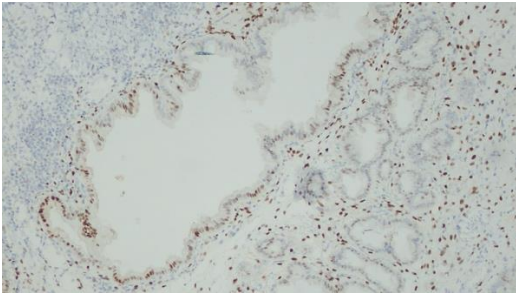
**Şekil 27:** Honey, Endometriyum epiteline ait kistik bezlerde orta şiddetli ER boyaması, endometriyal bezlerde ve myometriyumda şiddetli ER boyaması, DAB, x10



**Şekil 28:** Köpük Selin, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), DAB, x20



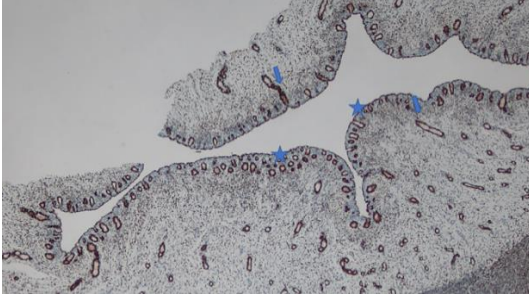
**Şekil 29:** Tarçın, yüzey epitellerinde hafif şiddetli ER boyaması, DAB, x20



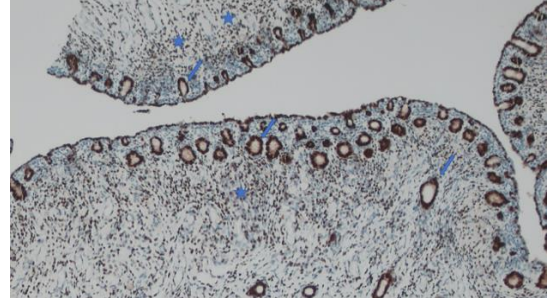
**Şekil 30:** Limon, Endometriyum epiteline ait kistik bezlerde hafif şiddetli ER boyaması, Hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), DAB, x10

#### 4.6.5. NK-5. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar

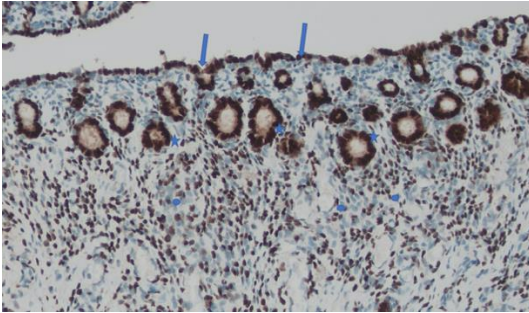
NK-5. gruba ait immunohistokimyasal sonuçlar Şekil 31-32-33-34-35'de verildi.



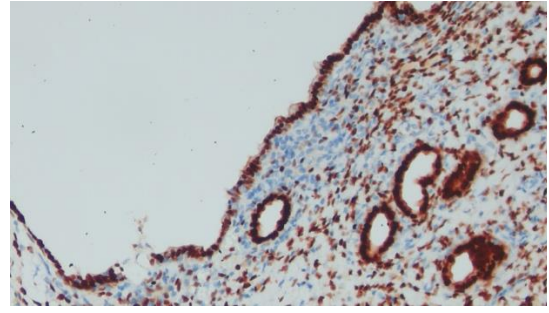
**Şekil 31:** Sağlıklı köpek 1, Endometriyum yüzeyinde ait endometriyal bezlerde şiddetli ER boyaması (ok), yüzey epitellerinde ER boyaması (yıldız), DAB, x4



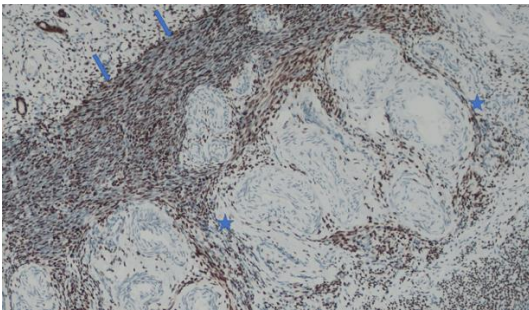
**Şekil 32:** Sağlıklı köpek 1, Endometriyum yüzeyinde ait endometriyal bezlerde şiddetli ER boyaması (ok), myometriyumda ER boyaması (yıldız),DAB, x10



**Şekil 33:** Sağlıklı köpek 1, Endometriyum yüzeyine ait endometriyal bezlerde (yıldız) ve yüzey epitellerinde (ok) şiddetli ER boyaması, DAB, x20



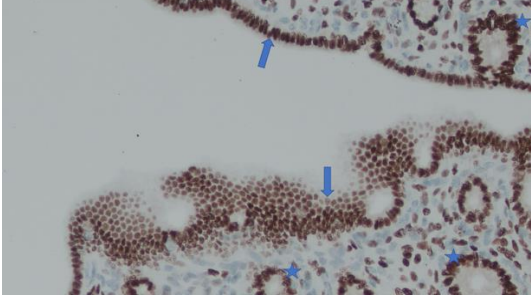
**Şekil 34:** Sağlıklı köpek 1, Endometriyum yüzeyinde ait endometriyal bezlerde ve yüzey epittellerin de şiddetli ER boyaması, DAB, x20



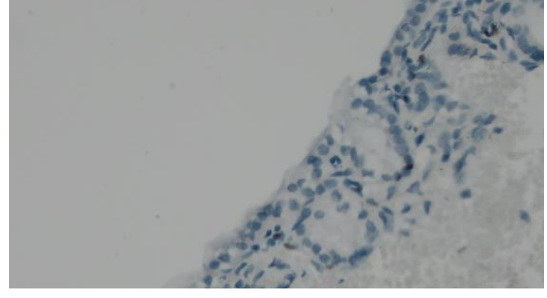
**Şekil 35:** Sağlıklı köpek 1, Endometriyum yüzeyinde ait endometriyal bezlerde şiddetli ER boyaması, endometriyal bağ doku (yıldız) ve myometriyum bölgesinde (ok)şiddetli ER boyaması, DAB, x10

#### 4.6.6. CEH-6. Gruba Ait İmmunohistokimyasal Sonuçlar

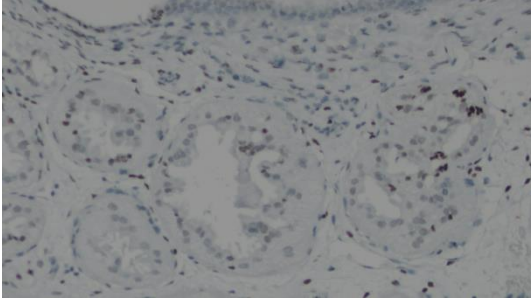
CEH-6. gruba ait immunohistokimyasal sonuçlar Şekil 36-37-38-39'da verildi.



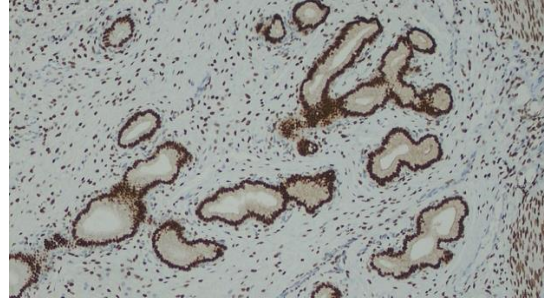
**Şekil 36:** Juilet, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlarda şiddetli ER boyaması, (ok) DAB, x20



**Şekil 37:** Misha, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), DAB, x40



**Şekil 38:** Merve, Endometriyum epiteline ait hiperplazik alanlarda ER boyaması (-), DAB, x20



**Şekil 39:** Anıl, Endometriyum epiteline ait kistik bezlerde şiddetli ER boyaması, endometriyal bezler şiddetli ER boyaması, Bağ doku orta şiddetli ER boyaması, DAB, x10

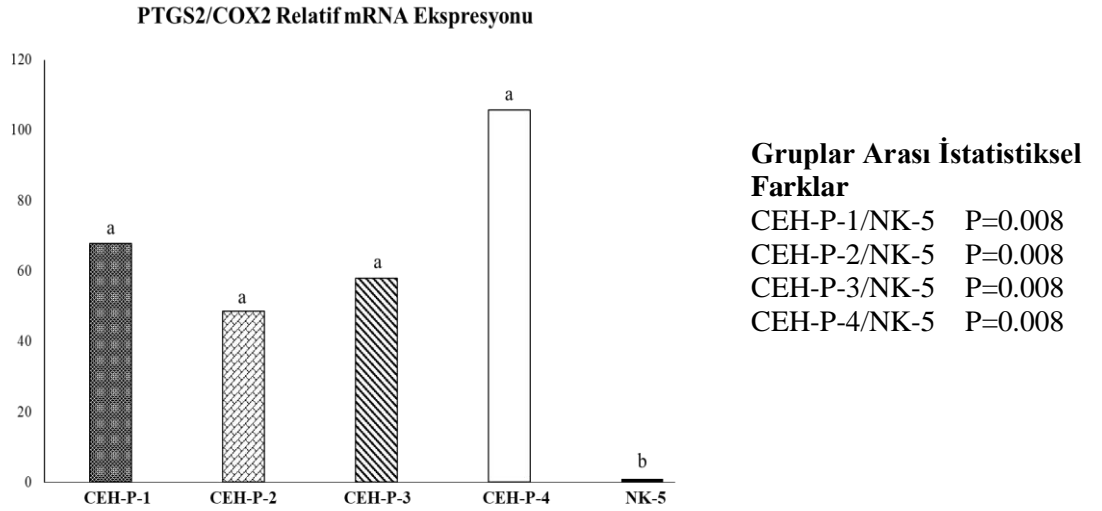
## 4.7. Gen Ekspresyonları Sonuçları

### 4.7.1. PTGS2/COX2 Gen Ekspresyonu Sonuçları

PTGS2/COX2 ekspresyonunun değerlendirilmesi iki yönlü yapılmıştır. Sağlıklı beş köpeğe ait veriler (NK-5) ve farklı günlerde aglepriston uygulaması yapılarak gruplanan (CEH-P-1, CEH-P-2, CEH-P-3) ve aglepriston yapılmayan (CEH-P-4) hastalarda, adı geçen genin ekspresyon seviyeleri değerlendirildi.

**Tablo 48:** Gruplara göre elde edilen PTGS2/COX2 relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi

CEH-P-1	CEH-P-2	CEH-P-3	CEH-P-4	NK-5	P
67.74 $\pm$ 43.74 <sup>a</sup>	48.56 $\pm$ 41.30 <sup>a</sup>	57.86 $\pm$ 58.93 <sup>a</sup>	105.66 $\pm$ 137.80 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	0.08



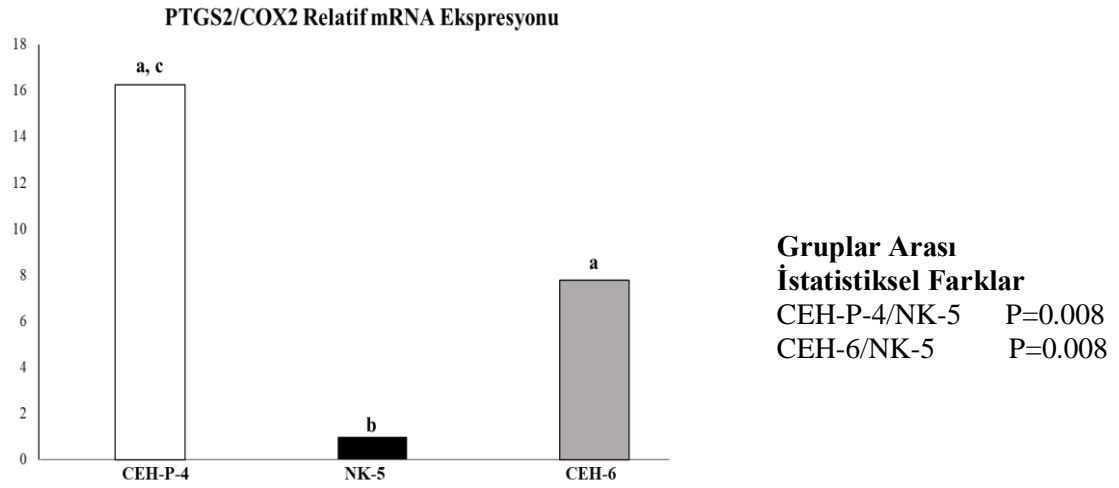
**Grafik 65:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların PTGS2/COX2 genine ait relatif mRNA ekspresyonu. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark bulundu (P<0.05) ancak ilk dört grup arasında fark olmadığı ve kontrol grubunun diğer tüm gruplara göre farklı olduğu belirlendi (P=0.008).

Gruplar arasında farkın sadece sağlıklı uteruslara göre bulunmuş olması, enfeksiyon olgularında PTGS2/COX2 ekspresyonunun yüksek seyretmesinden dolayı, CEH-P-4 (CEH-pyometra), NK-5 (kontrol grubu) ve CEH-6 (enfeksiyonsuz CEH) arasında yeni bir istatistiksel analiz yapıldı. Buna göre gruplar arasında fark bulundu (P=0.002).

**Tablo 49:** Üç grubun hastalarına ait PTGS2/COX2 relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi

CEH-P-4	NK-5	CEH-6	P
105.66 $\pm$ 137.80 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	7.79 $\pm$ 8.50 <sup>a</sup>	0.002



**Grafik 66:** Üç grubun hastalarına ait PTGS2/COX2 relatif mRNA ekspresyon değerleri. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

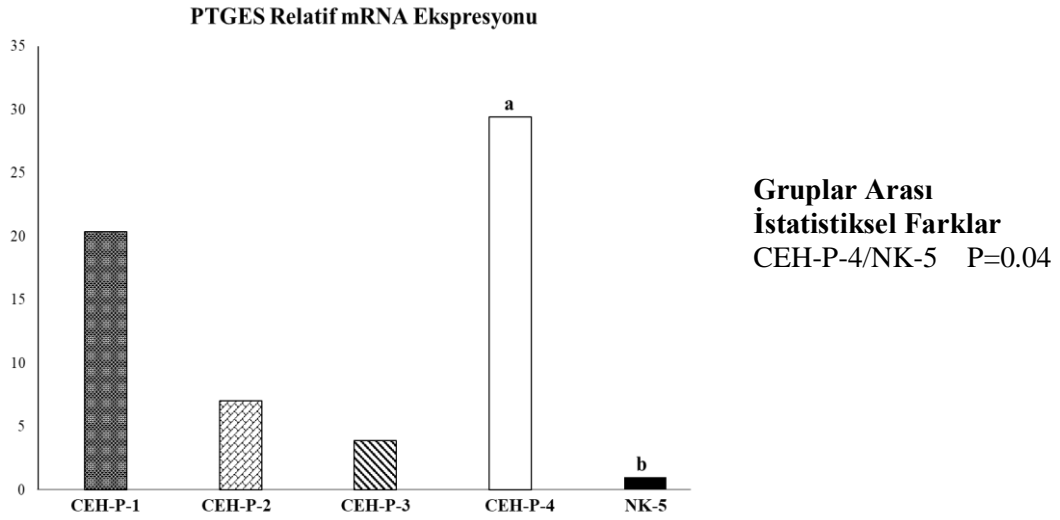


#### 4.7.2. PTGES Gen Ekspresyonu Sonuçları

PTGES ekspresyonunun değerlendirilmesi iki yönlü yapılmıştır. Sağlıklı beş köpeğe ait veriler (NK-5) ve farklı günlerde aglepriston uygulaması yapılarak gruplanan (CEH-P-1, CEH-P-2, CEH-P-3) ve aglepriston yapılmayan (CEH-P-4) hastalarda, adı geçen genin ekspresyon seviyeleri değerlendirildi.

**Tablo 50:** Gruplara göre elde edilen PTGES relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi

CEH-P-1	CEH-P-2	CEH-P-3	CEH-P-4	NK-5	P
20.37 $\pm$ 9.89	7.06 $\pm$ 8.25	3.88 $\pm$ 4.54	29.44 $\pm$ 29.43 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	0.006



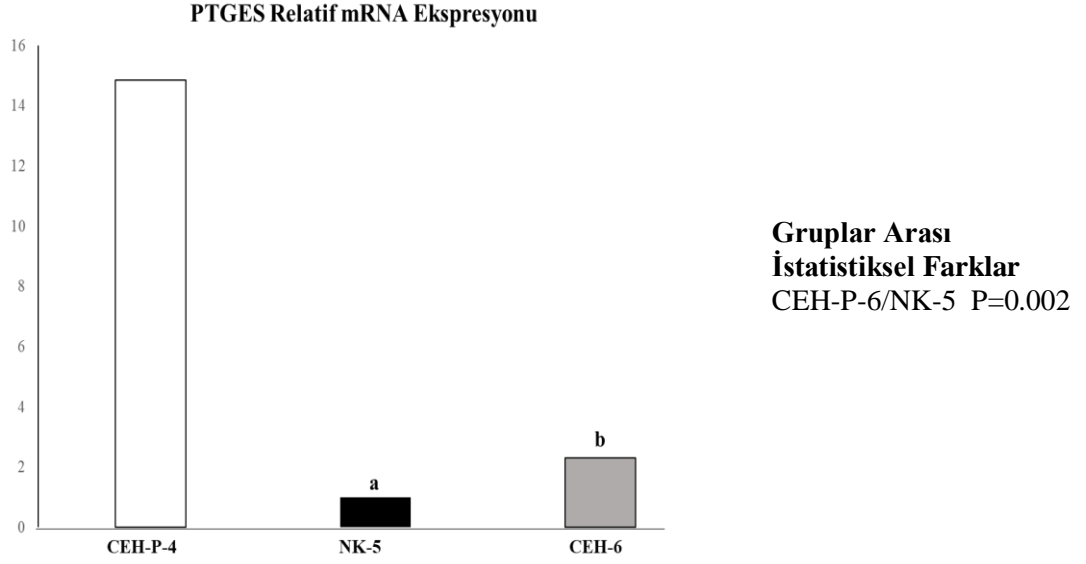
**Grafik 67:** CEH+pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların PTGES genine ait relatif mRNA ekspresyonu. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark bulundu (P<0.05). Bu gen için CEH-P-4 ve NK-5 arasında fark olduğu tespit edildi (P=0.04).

Gruplar arasında karşılaştırmanın sağlıklı uteruslara göre tespit edilmiş olması ve enfeksiyonun PTGES ekspresyonuna etkisinin olabilmesi nedeniyle, CEH-P-4 (CEH+pyometra), NK-5 (kontrol grubu) ve CEH-6 (enfeksiyonsuz CEH) arasında yeni bir karşılaştırma yapıldı. Buna göre, gruplar arasında fark bulundu (P=0.004), ayrıca NK-5 ve CEH-6 arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (P=0.002).

**Tablo 51:** Üç grubun hastalarına ait PTGES relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi

CEH-P-4	NK-5	CEH-6	P
29.44 $\pm$ 29.43	1 <sup>a</sup>	2.30 $\pm$ 1.09 <sup>b</sup>	0.004



**Grafik 68:** Üç grubun hastalarına ait PTGES relatif mRNA ekspresyon değerleri. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

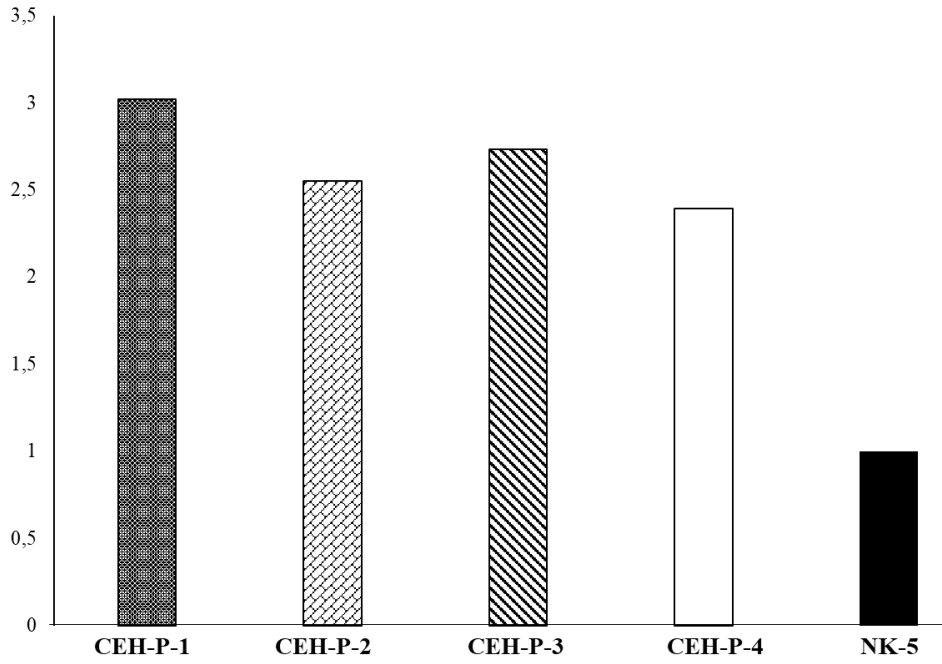
### 4.7.3. PTGER2 Gen Ekspresyonu Sonuçları

PTGER2 ekspresyonunun değerlendirilmesi iki yönlü yapılmıştır. Sağlıklı beş köpeğe ait veriler (NK-5) ve farklı günlerde aglepriston uygulaması yapılarak gruplanan (CEH-P-1, CEH-P-2, CEH-P-3) ve aglepriston yapılmayan (CEH-P-4) hastalarda, adı geçen genin ekspresyon seviyeleri değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark bulunamadı (P>0.05).

**Tablo 52:** Gruplara göre elde edilen PTGER2 relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi

CEH-P-1	CEH-P-2	CEH-P-3	CEH-P-4	NK-5	P
3.02 $\pm$ 1.64	2.55 $\pm$ 0.67	2.73 $\pm$ 2.19	2.39 $\pm$ 0.93	1	>0,05

### PTGER2 Relatif mRNA Ekspresyonu

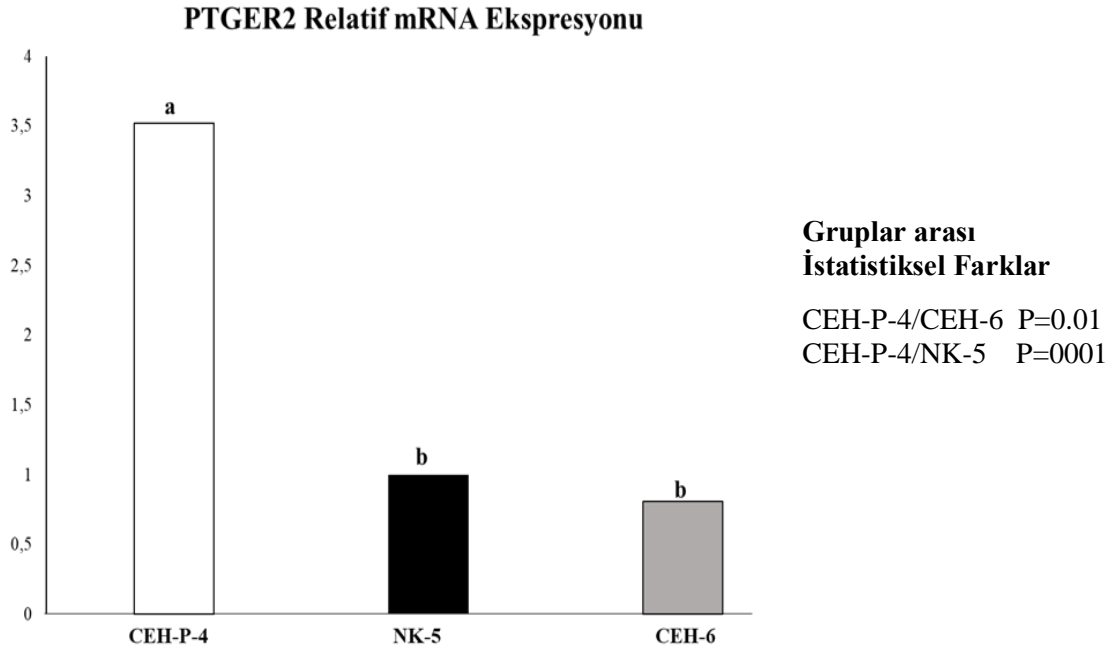


**Grafik 69:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların PTGER2 genine ait relatif mRNA ekspresyonu

Gruplar arasında karşılaştırmanın sağlıklı uteruslara göre tespit edilmiş olması ve enfeksiyonun PTGER2 ekspresyonuna etkisinin olabilmesi nedeniyle, CEH-P-4 (CEH-pyometra), NK-5 (kontrol grubu) ve CEH-6 (enfeksiyonsuz CEH) arasında yeni bir karşılaştırma yapıldı. Buna göre, gruplar arasında fark tespit edildi ( $P=0.004$ ).

**Tablo 53:** Üç grubun hastalarına ait PTGER2 relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi.

CEH-P-4	NK-5	CEH-6	<i>P</i>
$2.39 \pm 0.93^a$	$1^b$	$0.81 \pm 0.56^b$	0.004



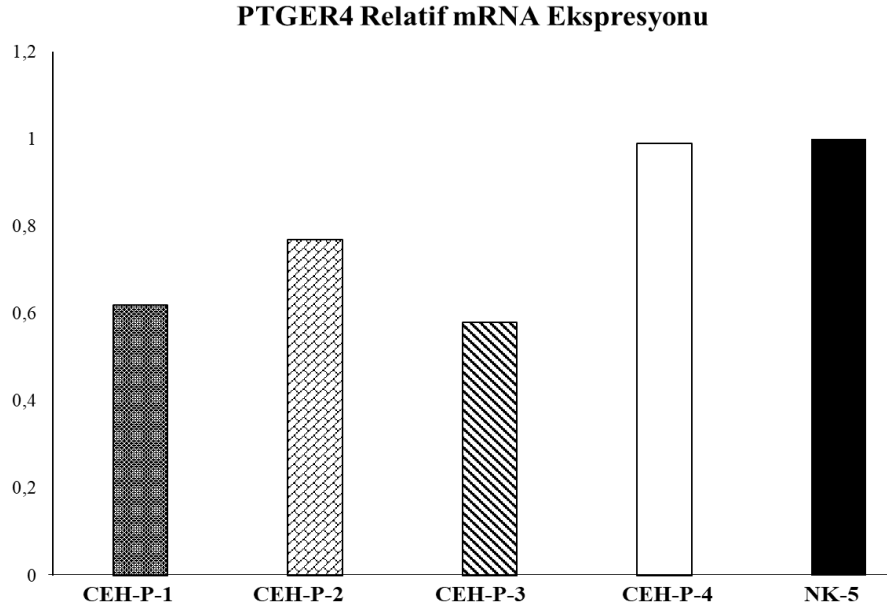
**Grafik 70:** Üç grubun hastalarına ait PTGER2 relatif mRNA ekspresyon değerleri. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

#### 4.7.4. PTGER4 Gen Ekspresyonu Sonuçları

PTGER4 ekspresyonunun değerlendirilmesi iki yönlü yapılmıştır. Sağlıklı beş köpeğe ait veriler kontrol (NK-5) olarak alınmış ve aglepriston uygulaması yapılan/yapılmayan CEH-pyometra patolojisi gözlenen hastalarda adı geçen genin ekspresyon seviyeleri değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark bulunamadı (P>0.05).

**Tablo 54:** Gruplara göre elde edilen PTGER4 relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi

CEH-P-1	CEH-P-2	CEH-P-3	CEH-P-4	NK-5	P
0.62 $\pm$ 0.48	0.77 $\pm$ 0.41	0.58 $\pm$ 0.44	0.99 $\pm$ 0.29	1	>0.05



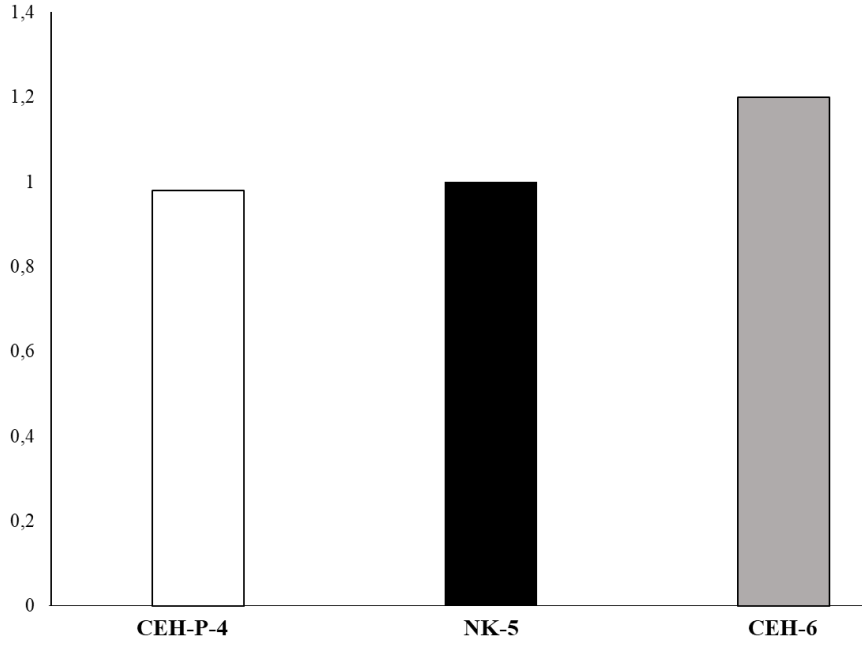
**Grafik 71:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların PTGER4 genine ait relatif mRNA ekspresyonu

Gruplar arasında karşılaştırmanın sağlıklı uteruslara göre tespit edilmiş olması ve enfeksiyonun PTGER4 ekspresyonuna etkisinin olabilmesi nedeniyle, CEH-P-4 (CEH+pyometra), NK-5 (kontrol grubu) ve CEH-6 (enfeksiyonsuz CEH) arasında yeni bir karşılaştırma yapıldı. Buna göre, gruplar arasında fark bulunamadı ( $P>0.05$ ).

**Tablo 55:** Üç grubun hastalarına ait PTGER4 relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi.

CEH-P-4	NK-5	CEH-6	<i>P</i>
0.99 $\pm$ 0.28	1	1.20 $\pm$ 1.03	>0.05

### PTGER4 Relatif mRNA Ekspresyonu



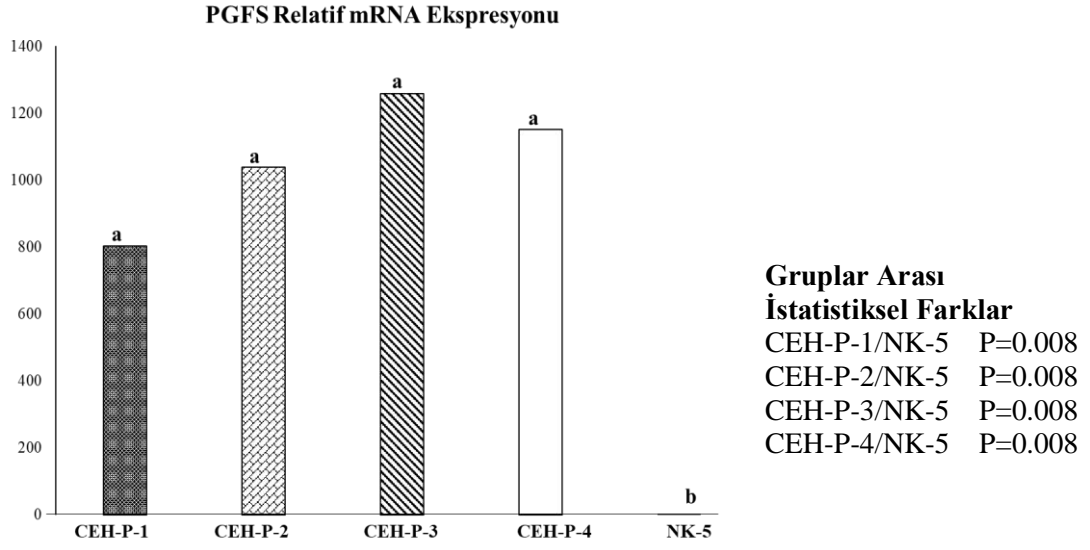
**Grafik 72:** Üç grubun hastalarına ait PTGER4 relatif mRNA ekspresyon değerleri.

### .7.5. PGFS Gen Ekspresyonu Sonuçları

PGFS ekspresyonunun değerlendirilmesi iki yönlü yapılmıştır. Sağlıklı beş köpeğe ait veriler kontrol (NK-5) olarak alınmış ve aglepriston uygulaması yapılan/yapılmayan CEH-pyometra patolojisi gözlenen hastalarda adı geçen genin ekspresyon seviyeleri değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark tespit edildi ( $P=0.016$ ). Bu gen için tüm grupların kontrol grubuna göre farkı tespit edildi ( $P=0.008$ ).

**Tablo 56:** Gruplara göre elde edilen PGFS relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi

CEH-P-1	CEH-P-2	CEH-P-3	CEH-P-4	NK-5	<i>P</i>
802.27 $\pm$ 1360.6 <sup>a</sup>	1038.38 $\pm$ 1188.2 <sup>a</sup>	1258.85 $\pm$ 1760.0 <sup>a</sup>	1151.39 $\pm$ 2184.2 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	0.016



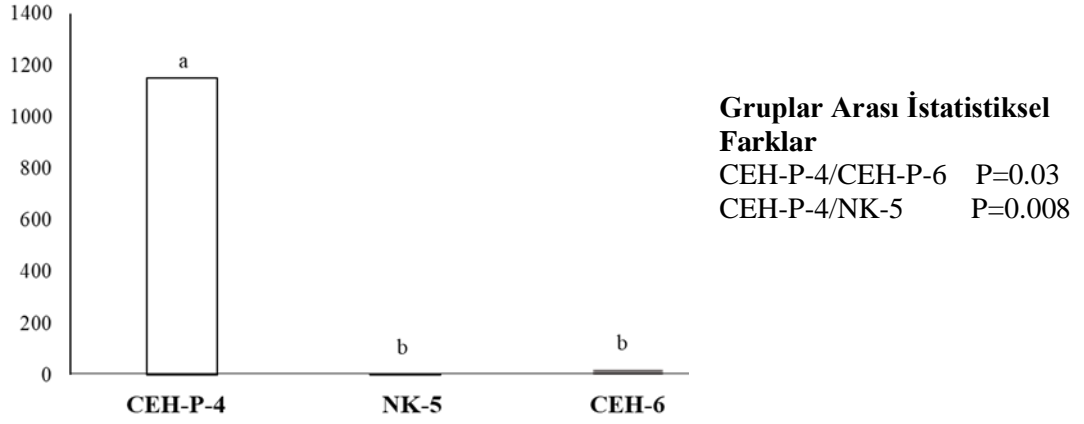
**Grafik 73:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların PGFS genine ait relatif mRNA ekspresyonu. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir,  $P < 0.05$

Gruplar arasında karşılaştırmanın sağlıklı uteruslara göre tespit edilmiş olması ve enfeksiyonun PGFS ekspresyonuna etkisinin olabilmesi nedeniyle, CEH-P-4 (CEH-pyometra), NK-5 (kontrol grubu) ve CEH-6 (enfeksiyonsuz CEH) arasında yeni bir karşılaştırma yapıldı. Buna göre, gruplar arasında fark bulundu ( $P=0.01$ ).

**Tablo 57:** Üç grubun hastalarına ait PGFS relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi.

CEH-P-4	NK-5	CEH-6	<i>P</i>
1151.39 $\pm$ 2184.2 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	19.96 $\pm$ 26.59 <sup>b</sup>	0.01

### PGFS Relatif mRNA Ekspresyonu



**Grafik 74:** Üç grubun hastalarına ait PGFS relatif mRNA ekspresyon değerleri. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

#### 4.7.6. PTGFR Gen Ekspresyonu Sonuçları

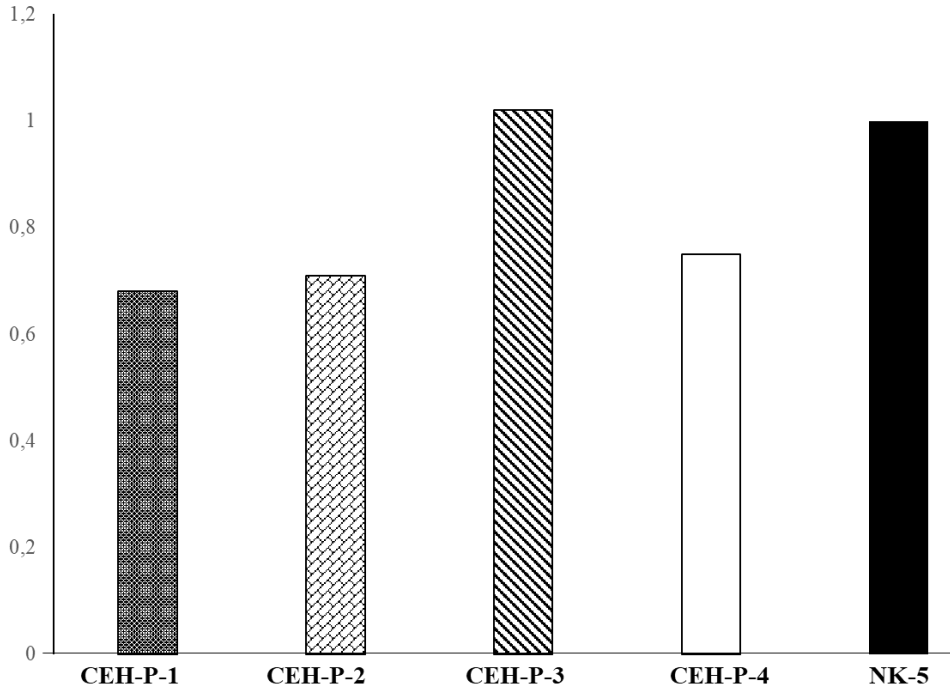
PTGFR ekspresyonunun değerlendirilmesi iki yönlü yapılmıştır. Sağlıklı beş köpeğe ait veriler kontrol (NK-5) olarak alınmış ve aglepriston uygulaması yapılan/yapılmayan CEH-pyometra patolojisi gözlenen hastalarda adı geçen genin ekspresyon seviyeleri değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark bulunamadı (P>0.05).

**Tablo 58:** Gruplara göre elde edilen PTGFR relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi.

CEH-P-1	CEH-P-2	CEH-P-3	CEH-P-4	NK-5	P
0.68 $\pm$ 0.13	0.71 $\pm$ 0.65	1.02 $\pm$ 0.95	0.75 $\pm$ 0.62	1	>0.05



### PTGFR Relatif mRNA Ekspresyonu

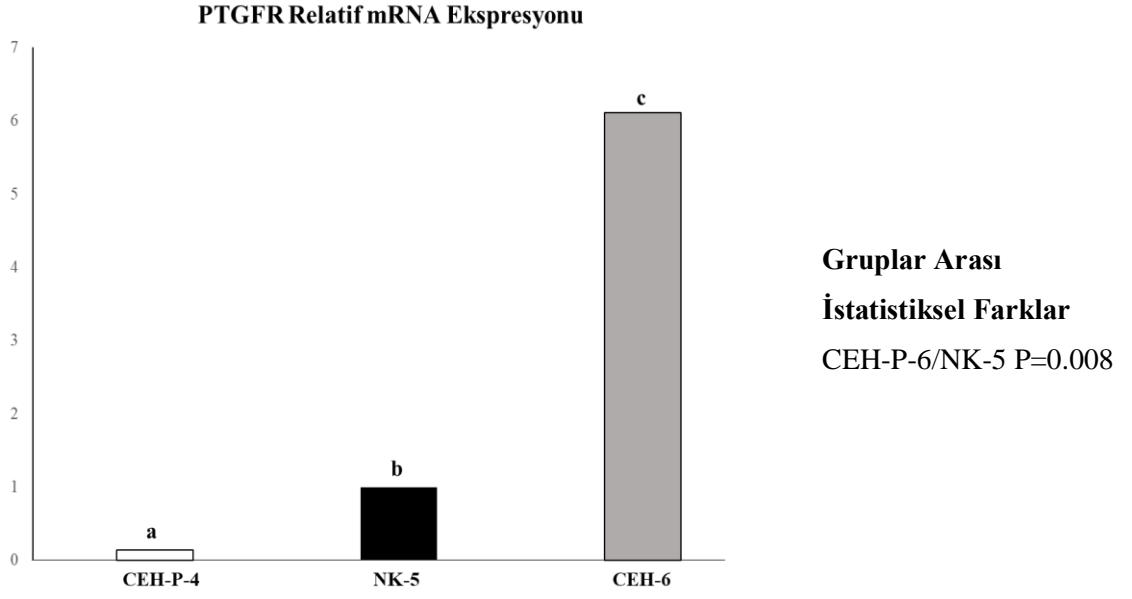


**Grafik 75:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların PTGFR genine ait relatif mRNA ekspresyonu.

Gruplar arasında karşılaştırmanın sağlıklı uteruslara göre tespit edilmiş olması ve enfeksiyonun PTGFR ekspresyonuna etkisinin olabilmesi nedeniyle, CEH-P-4 (CEH-pyometra), NK-5 (kontrol grubu) ve CEH-6 (enfeksiyonsuz CEH) arasında yeni bir karşılaştırma yapıldı. Buna göre, gruplar arasında fark bulundu ( $P=0.002$ ).

**Tablo 59:** Üç grubun hastalarına ait PTGFR relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi

CEH-P-4	NK-5	CEH-6	<i>P</i>
0.14 $\pm$ 0.12	1 <sup>a</sup>	6.11 $\pm$ 5.62 <sup>b</sup>	0.002



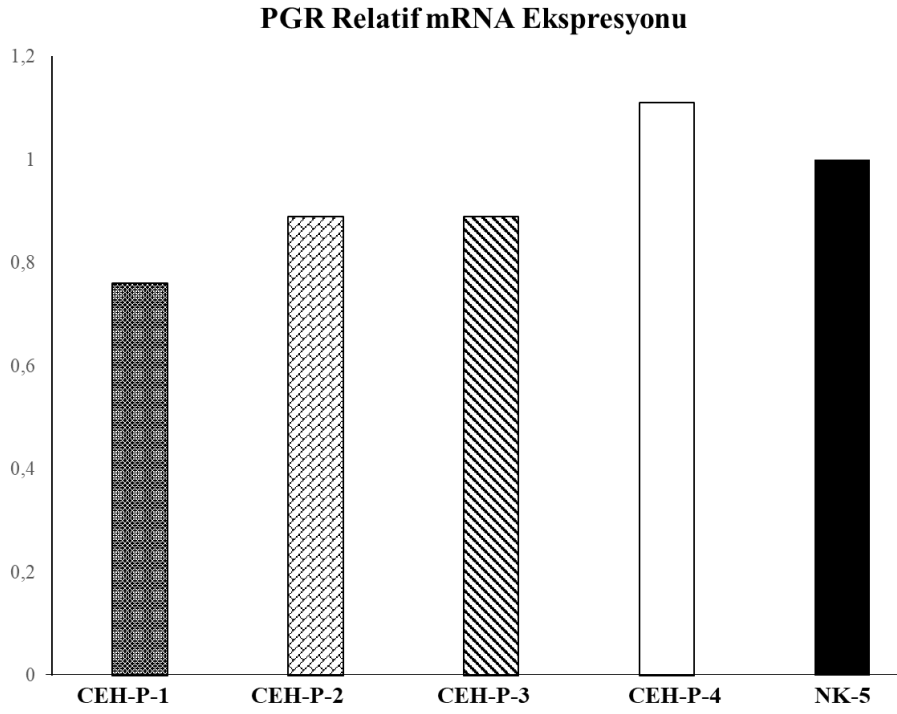
**Grafik 76:** Üç grubun hastalarına ait PTGFR relatif mRNA ekspresyon değerleri. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir, P<0.05

#### 4.7.7. PGR Gen Ekspresyonu Sonuçları

PGR ekspresyonunun değerlendirilmesi iki yönlü yapılmıştır. Sağlıklı beş köpeğe ait veriler kontrol (NK-5) olarak alınmış ve aglepriston uygulaması yapılan/yapılmayan CEH-pyometra patolojisi gözlenen hastalarda adı geçen genin ekspresyon seviyeleri değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark bulunamadı (P>0.05).

**Tablo 60:** Gruplara göre elde edilen PGR relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi.

CEH-P-1	CEH-P-2	CEH-P-3	CEH-P-4	NK-5	P
0.76 $\pm$ 0.18	0.89 $\pm$ 0.70	0.89 $\pm$ 0.70	1.11 $\pm$ 0.91	1	>0.05

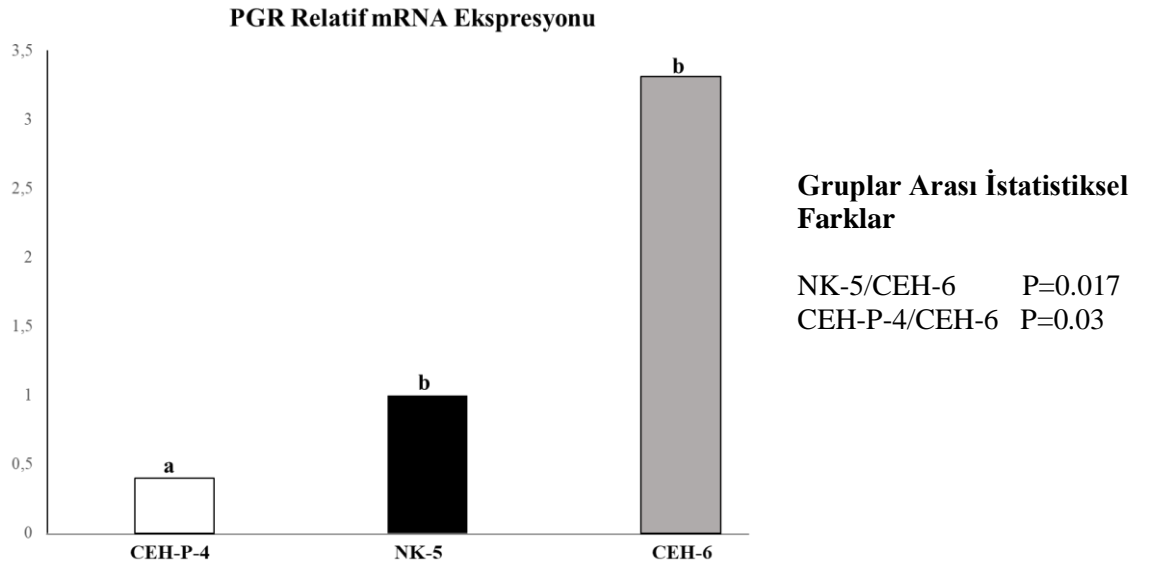


**Grafik 77:** CEH-pyometra tanısı almış ve tedavi görmüş hastaların PGR genine ait relatif mRNA ekspresyonu

Gruplar arasında karşılaştırmanın sağlıklı uteruslara göre tespit edilmiş olması ve enfeksiyonun PGR ekspresyonuna etkisinin olabilmesi nedeniyle, CEH-P-4 (CEH-pyometra), NK-5 (kontrol grubu) ve CEH-6 (enfeksiyonsuz CEH) arasında yeni bir karşılaştırma yapıldı. Buna göre, gruplar arasında fark tespit edildi ( $P=0.01$ )

**Tablo 61:** Üç grubun hastalarına ait PGR relatif mRNA ekspresyon değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD olarak verildi.

CEH-P-4	NK-5	CEH-6	<i>P</i>
1.11 $\pm$ 0.91 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	3.31 $\pm$ 1.71 <sup>b</sup>	0.01



**Grafik 78:** Üç grubun hastalarına ait PGR relatif mRNA ekspresyon değerleri. <sup>a,b</sup> gruplar arasındaki farkı gösterir,  $P < 0.05$

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

CEH, fırsatçı patojenlerin eşlik etmesiyle ‘CEH-pyometra kompleksi’ olarak anılan ve bazı araştırmacılar tarafından tüm yaşlı köpeklerde farklı derecelerde gelişen ve bir kısmının pyometra ile komplike olduğu patolojik bir komplekstir. Buna göre, CEH ve pyometra birbirinden bağımsız etiopatolojiye sahip olduğu düşünülen, iki ayrı hastalık olduğu kabul edilmektedir (Angulo, 2009; De Bosschere ve ark., 2001; Verstegen, Dhaliwal, & Verstegen-Onclin, 2008).

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların yaş ortalaması 5.4 – 8.8 aralığında bulundu. Çalışma içinde uterus patolojisine sahip (CEH-P veya CEH) tüm köpeklerin yaş ortalaması ise  $7.28 \pm 2.2$  olarak tespit edildi. Yapılan araştırmalarda, CEH-pyometra olgularının en yüksek oranda, “7.5” yaş civarındaki yaşlı köpeklerde gözlemlendiği bildirilmektedir (Johnston ve ark., 2001). Borresen (1980), yaptığı çalışmada pyometralı köpeklerin yaş ortalamalarını “7.8” olarak belirtirken, Wheaton, Johnson, Parker & Kneller (1989) “7.9”, Veiga ve ark (2017) ise “5.9–8” olarak tespit etmiştir. CEH’ye, çoğunlukla pyometra ve mukometra gibi patolojilerin eşlik ettiği olgular araştırmalara yansıtılırken, CEH’nin tek başına değerlendirildiği literatürlere tarafımızca karşılaşılmamıştır. Ancak çeşitli araştırmalarda, CEH-P’li köpeklerin yaş ortalamaları ile çalışma verilerimizin uyumluluk gösterdiği görülmektedir.

Çalışmamızdaki CEH-P grubundaki hastalardan 19 tanesinde iştahsızlık gözlemlenirken, sadece bir tanesinde iştah kaybı gözlenmiştir. Yapılan araştırmalarda da bu hastalığa sahip köpeklerde, genel durum bozukluğunun görüldüğü ve iştah kaybının bulunmasının, çalışmamızda elde edilen diğer klinik araştırma ve gözlemlerle benzerlik gösterdiği görülmektedir (Pretzer, 2008b; Wheaton ve ark., 1989). Bununla birlikte CEH’li uterusu sahip ancak, bu duruma eşlik eden sıvı akümüülasyonunun olmadığı ve klinik belirtilere sahip olmayan köpeklerde genel durum bozukluğu gözlenmemiştir. Bu bilgilere göre klinik belirti olmaksızın progresyon gösteren CEH, köpeklerde spontan OHE ile tespit edilebilen ve genel durum bozukluğuna yol açmayan bir patoloji olarak kabul edilebilir.

Araştırmamızdaki 14 hasta, açık serviks pyometra tanısı alırken, 6 hastanın serviksinin kapalı olduğu gözlemlendi. Açık serviksli hastalarda değişken karakterde (kanlı, mukopurulent ve purulent) vaginal akıntılar tespit edilirken, serviksi kapalı hastalarda herhangi bir akıntının olmaması ile birlikte, bu hastaların genel durumları, serviksi açık olan hastalarla kıyaslandığında daha kötü olduğu görüldü. Daha önce yapılan çalışmalarda da, en sık gözlenen klinik bulgu olarak, açık serviks pyometralı köpeklerde kanlı, mukopurulent karakterde değişen, kötü kokulu vaginal akıntı olduğu tespit edilmektedir. Kapalı serviks pyometralı köpeklerin, açık serviks pyometralı köpeklere göre sistemik bulgularının daha ağır seyrettiği bildirilmektedir (Dow, 1957; Dow, 1958; Hardy, & Osborne, 1974; Renton, Boyd, & Harvey, 1993; Feldman, & Nelson, 2004). Yapılan araştırmalardaki bu klinik verilerin çalışma sonuçlarımızla benzer olduğu görülmektedir. Literatür bilgileri, daha önce gebelik şekillenmemiş köpeklerde pyometra insidansının yüksek olduğunu ortaya koymaktadır (Fukuda, 2001). Çalışmamızdaki CEH-P gruplarındaki toplam 20 hastadan sadece 2 tanesinin daha önce doğum yaptığı bilgisi ise, önceki araştırmaların gözlemleriyle paralellik göstermektedir.

Östrusu baskılamak için kullanılan ilaçların CEH-P'ye yol açtığı, aynı zamanda da ovaryum ve uterus patolojilerine sebebiyet verdiği ortaya konulmaktadır (Younis, Mohammed, Abu- Seida, Ragab, & Gohar, 2014). Uzun süreli veya tekrarlanan progesteron uygulamaları sonucu, endometriyumda kistik oluşumların meydana geldiği ve glanduler sekresyonun artışıyla birlikte uterusu bakteriyal enfeksiyon şekillenmesi sonucu pyometraya yol açtığı bilinmektedir (Baithalu, Maharana, Mishra, Sarangi & Sama, 2010). Son araştırmalar, CEH-P kompleksinin mutlaka birlikte gözlenmesinin gerekmediği, her iki patolojinin birbirinden bağımsız gelişebileceğini de öne sürmektedir. Östrus evresinde kullanılan egzojen progesteron, uterus üzerindeki etkisini artırarak endometriyumda steroid reseptörlerinin dağılımını etkilemekte ve CEH/ CEH-Pa kompleksinin patogenezislerinde önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir (Baithalu ve ark., 2010; Dhaliwal ve ark., 1999 Progesteron kullanımının, endometriyum ve myometriyumda bakteri afinitesini artırarak, prognozu kötü yönde etkileyebileceği düşünülmektedir (Baithalu ve ark., 2010; Dow, 1960). Çalışmamızda östrusu baskılamak için daha önce egzojen progesteron enjeksiyonları yapılan 6 hastanın, hiç egzojen progesteron kullanmamış hastalara kıyasla, vaginal

kanamalarının daha fazla olduğu, genel durumlarının ise daha geç düzeldiği gözlemlendi. Bu bulgular diğer araştırmacıların bulgularıyla örtüşmekte ve progesteron uygulamalarının CEH-P'nin şekillenmesine predispozisyon yarattığı, aynı zamanda prognozu kötü etkilediğini doğrulamaktadır.

De Bosschere ve ark (2002b), yaptığı çalışmada progesteron enjeksiyonlarının, kistik bezlerdeki östrojen reseptör miktarını ve yoğunluğunu azalttığını ortaya koymaktadır. Yaptığımız çalışmada ise daha önceleri egzojen progesteron kullanan hastaların immunohistokimyasal incelemesinde endometriyum yüzeyinin hiperplazik alanlarının hafif ya da hiç ER boyaması almadığı, kistik yapıların ise orta veya hafif şiddetli ER boya aldığı görüldü. Elden edilen bu sonuçlar De Bosschere ve ark (2002b) tarafından yapılan araştırma bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Pyometrada medikal tedavinin temelini intravenöz hidrasyon ve antimikrobiyal terapi oluşturmaktadır (Fransson, & Ragle, 2003b; Wiebe, & Howard, 2009). Antibiyotiklere ek olarak, uterus içeriğinin boşaltılması, tedaviye destek sağlamaktadır. Bu amaçla, PGF<sub>2α</sub>, prolaktin inhibitörleri ve antigestagenlerin tek başına ya da kombinasyonlu kullanımları önerilmektedir. PGF<sub>2α</sub>'nın başarılı sonuç verdiği bildirilmesine rağmen, kullanım esnasında uterus rupturuna, kullanım sonrasında ise, hastalarda abdominal ağrı, kusma, taşikardi, vücut sıcaklığında artış ve hipersalivasyon gibi yan etkilere sebep olduğu ortaya konulmaktadır (Nelson, & Feldman, 1986). Prostaglandinler ile birlikte prolaktin inhibitörlerinin kullanılması da, bir diğer tedavi seçeneğidir (Baithalu ve ark., 2010). Antiprogestinler ise, progesteron reseptörleri için yüksek afiniteye sahip ve progesteronun biyolojik etkilerini göstermesini engelleyen sentetik steroidlerdir. Bir progesteron reseptör blokörü olan aglepristonun kullanımının tedavide başarılı olduğu ve pyometra tedavisinde tek başına %75'ten fazla başarılı sonuç verdiği raporlar bulunmaktadır (Jena, Rao, Reddy, & Raghavan, 2013; Träsch, Wehrend, & Bostedt, 2003). Fieni, Topie & Gogny (2014) tarafından pyometralı köpeklerde yapılan çalışmada, ilk aglepriston enjeksiyonu sonrasındaki 2-7 gün boyunca vaginal akıntıda aşamalı artış olduğu rapor edilmektedir. Takip eden günlerde ise vaginal akıntının kıvamı purulent, müköz takiben seröz hale dönüşmekte, aynı zamanda akıntı miktarının da günden güne azaldığı sonucuna varılmaktadır (Fieni ve ark., 2014). Buna ek olarak aglepriston tedavisinin sistemik yan etkilere neden olmadığı da bildirilmektedir (Fieni ve ark.,

2001). Bu bilgilerle, araştırmamıza dâhil ettiğimiz CEH-P gruplarındaki hastalara sıvı sağaltımı ve kombine (Seftiriakson ve Metronidazol) antibiyotik tedavileri yapılmış olup, genel durum ve kan bulguları izlenerek tedaviye yanıtın gerçekteştiği görölmüştür. Çalışmamızdaki CEH-P'li 3 gruba sırasıyla 2, 3, ve 4 doz aglepriston uygulamaları yapılmıştır. İlk enjeksiyondan sonra 12-24 saat içinde açık serviks pyometralı hastaların vaginal akıntılarının arttığı, kapalı serviks pyometraya sahip hastaların ise 24 saat içinde vaginal akıntısının başladığı tespit edilmiştir. Yapılan enjeksiyonların neticesi olarak, vaginal akıntı karakterlerinin seröz hale geldiği, iştahta artış ve genel durumlarında düzelme gözlendiği ve herhangi bir yan etki görölmediği tespit edilmiştir. Aglepriston enjeksiyonu sonrasında tedavi edilen hastaların klinik süreçleri ve tedavide başarı oranı, yapılan araştırma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmada, CEH-pyometra nedeniyle oluşan inflamatuvar sürecin varlığının gösterilmesi ve lökosit artışının ortaya konması amacıyla, tedavi öncesinde tam kan sayımı yapılmış ve lökosit artışları saptanmıştır. CEH-pyometra patolojisine sahip köpeklerde yapılan diğer araştırmalarda da benzer sonuçlar bildirilmektedir (Patil ve ark., 2013; Shah ve ark., 2017; Samantha ve ark., 2018). Uterusta bulunan purulent eksudat kemotaktik etkiye sahip olup, artan granülopoez etkisi ile kan sirkülasyonundaki nötrofil sayısı yükselmektedir (Singh, Dadhich, & Sharma, 2006). Çalışmaya dahil edilen hastaların nötrofil değerleri referans aralığının üzerinde tespit edilmiştir. Bu sonuç Singh ve ark (2006) tarafından yayınladığı sonuçlarla paralellik göstermektedir. Grup CEH-P-1 ve CEH-P-2'deki bazı hastaların tedaviye ilk yanıt olarak nötrofil sayısındaki azalmaya rağmen, sonrasında tekrar artışın gözlenmesi, uterustaki mikroorganizmaların ve bunların toksinlerinden kaynaklı olabileceği ve aynı zamanda antimikrobiyal direncin varlığının sebep olabileceği düşünölmektedir (Hagman, 2004).

Pyometrada meydana gelen endotoksemi sonucu lenfosit aktivitesinin bozulduğu, yapılan çalışmalar ile ortaya konulmaktadır (Fransson, & Ragle, 2003b ; Hauptman, Walshaw, & Olivier, 1997). Çalışmamızda CEH-pyometra'lı gruplardan 3 hastada (Salkım, Pamuk, Kasap) önemli oranda lenfosit artışının olduğu tespit edildi. Salkım ve Pamuk'a tedavi sonrasındaki takip sürecinde, lenfoma tanısı konulmuştur. Lenfosit sayısında artış meydana gelen hastaların ileriki dönemlerde takibinin



yapılması ve lenf yumrularından örnek alınıp incelenmesi erken tanı ve tedavi için faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Pyometradan etkilenen köpeklerde RBC değerlerinin referans aralıklarının altında olabileceği araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Patil ve ark., 2013; Samantha ve ark., 2018). Çalışmamızda da 10 hastanın RBC değerlerinin normal sınırların altında olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte CEH-pyometra'lı 8 hastada da hemoglobin değerlerinin, referans aralıklarının altında olduğu görüldü. Araştırmacılar tarafından da CEH-pyometra'lı köpeklerde hemoglobin düzeylerinde azalma sözü konusu olduğu bildirilmektedir (Dabhi, Dhama, Parikh, & Patil, 2009; Hagman, Reezigt, Bergström, & Karlstam, 2009; Nath ve ark., 2009; Singh ve ark., 2006). Diğer taraftan CEH-P'li gruplara dâhil edilen 6 hastada HCT değerleri normal sınırların altında tespit edilmiştir. Trombosit (PLT) sayıları da 8 hastada referans değerinin altında bulunmuştur. Pyometralı köpekler arasında tespit edilen trombositopeni, farklı yazarlar tarafından da ortaya konmaktadır (Fransson, 2003a; Samantha ve ark., 2018). Retiküloendotelial sistem tarafından artan demir afinitesi ve azalan toplam demir bağlama kapasitesi, akut ve kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkili olması ile birlikte, bu hastalık demir eksikliğini ve ardından anemiyi indükleyerek RBC, HGB, PLT ve HCT değerlerinde azalma meydana getireceği ortaya konmaktadır (Nath ve ark., 2009; Hagman ve ark., 2009). Ayrıca kemik iliği üzerindeki endotoksik etkiler, kan hücreleri üretimine büyük oranda etki ettiği bildirilmektedir (Dabhi ve ark., 2009; Hauptman ve ark., 1997; Nath ve ark., 2009).

Pyometra, renal ve hepatik fonksiyon değişimlerine neden olabilmektedir (Boryczko, Bostedt, Jurka, Jurka, & Boryczko, 1994). Uterus kaynaklı toksinlerin etkisiyle oluşan değişimler serum üre, kreatinin ve AST artışına neden olmaktadır (Barr, 1990; Bree, Schepper, & Capiu, 1988; Dinç, 1997; Fraser, 1991; Feldman, & Nelson, 1987). Çalışmamızda hasta sahiplerinin maddi imkânsızlıklarından dolayı düzenli biyokimyasal analiz takibi yapılamamıştır. Aralıklı yapılan biyokimyasal veriler tez içerisine dâhil edilmemiş olup, sadece tedavi protokolünün düzenlenmesinde kullanılmıştır.

Pyometra teşhisinde ultrasonografik yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli araştırmacılara göre, ultrasonografi bulgularında, kalınlaşmış endometriyum ve

aneokoik/ hipoekoik sıvı içeren kıvrımlı, tubuler yapıda (bal peteği görüntüsü) genişlemiş uterus yapısının saptanmasının, pyometra teşhisi için yeterli olduğu belirtilmektedir (Fayrer-Hosken, Mahaffey, Miller-Liebl, & Caudle, 1991; Voges, & Neuwirth, 1996). Çalışmamızda ultrasonografi bulgularında tipik bal peteği görüntüsü CEH-Pyometra teşhisi için yeterli görülmüştür.

CEH-pyometra kompleksi yaşlı köpeklerde sıklıkla karşılaşılan bir hastalıktır. CEH ise genellikle yalnızca uterusu sıvı akümülyasyonlarının varlığının görülmesi ile tespit edilebilmekte, dolayısıyla bu durum CEH'in tanısının konulmasını zorlaştırmaktadır. Pyometra tanısı, çoğunlukla klinik, ultrasonografik ve hematolojik verilerle ortaya konulmakta, CEH'nin ise hastalık tablosuna dahil olup olmadığı, histopatolojik sonuçlarla ortaya çıkmaktadır (Woźna-Wysocka ve ark., 2021). Çalışmamızda ise, hastalar yukarıda belirtilen parametreler yönünden değerlendirilmiş ve bu parametreler sadece pyometra teşhisini koyabilmek için kullanmıştır. CEH-P ve CEH gruplarının belirlenebilmesi ve özellikle CEH'li hastaların değerlendirilebilmesi için, histo-patolojik değerlendirme ve sınıflandırmalar da tamamlanmıştır.

Ticari kit ve Trizol kullanılarak yapılan mRNA izolasyon sonuçları değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonunda Real time PCR ölçümleri için Trizol kullanılarak elde edilen izolatlar tercih edilmiştir. Hastalara ait doku örneklerinde ölçülen mRNA konsantrasyonlarının genel ortalaması Trizol yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçlarda daha yüksek olduğu görülmüştür. RNA saflığını belirlemek için ölçülen 260/280 oranının optimal değerinin ise ticari kit kullanımında olduğu görüldü. Sonuçlarımız, saflaştırma kiti kullanmadan, yüksek kalitede RNA izolasyonu için Trizol yönteminin ekonomik ve tekrar edilebilir bir metot olduğunu desteklemektedir (Özalp, Şimşek, Akçağlar, & Shenavai 2010).

Kadınlarda sıklıkla gözlenen endometriyum kanserlerinin temelinde endokrinolojik nedenler yatmaktadır. Kontraseptif kullanımı, yüksek progestagenlere maruz kalma, egzogen östrojenlerin endometriyal epitel mitotik aktivite artışına sebep olması gibi hormonal faktörlerin, endometriyal kanserlerin insidansını önemli ölçüde arttırdığı bildirilmektedir (Schlesselman, 1997; Key, & Pike, 1988; Weiderpass ve ark., 1999). Bununla birlikte menstrual siklusların inflamatorik süreçle benzer olması ve endokrinolojik faktörlerin bu duruma eşlik etmesiyle, endometriyumda meydana

gelen proinflamatorik çevrenin direkt olarak neoplastik değişimlere neden olduğu bildirilmektedir (Modugno ve ark., 2005). Köpeklerde meydana gelen CEH'nin patogenezi net olarak ortaya konmamış olmasına rağmen, medroksiprogesteron asetat ve tamoksifen uygulamaları, uterus içi iritan etkenler, büyüme faktörleri ve inflamasyonun (*E. coli* kaynaklı), köpek endometriyumunun anormal cevabı olarak kabul edilmektedir (De Bosschere ve ark., 2001; Kim, & Kim 2005; Noakes ve ark., 2001). Köpek ve insanlarda gözlenen endometriyal değişikliklerin endokrinolojiden köken aldığı görülmektedir. Kadınların menstrual siklusunun kontrolünün köpeklerde olduğu gibi uterolizine bağlı olmadığı ve kadınlarda siklus döngüsü süresince proinflamatorik çevrenin oluşmasına benzer veriler, köpek siklusunda da ortaya konulmaktadır.

Literatür verilerine göre, uterusun progesterona aşırı duyarlılığının CEH-pyometraya yol açabileceğini öne sürüldüğünden, pek çok araştırmacı tarafından köpek uterusunda lokalize olan ER ve PR reseptörlerindeki ekspresyonlar araştırılmıştır (De Bosschere ve ark., 2002b; De Bosschere ve ark., 2003). Yapılan bir çalışmada CEH-mukometra'lı köpeklerde, endometriyum yüzey epiteli, kistik bezler ve myometriyumda, sağlıklı ve endometritis-pyometralı köpeklere kıyasla daha fazla ER skoruna sahip olduğu ortaya konulmaktadır (De Bosschere ve ark., 2002a). Aynı zamanda egzogen progesteron uygulanan CEH-mukometralı hastalarda, ER skorunun daha da düşük olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma verilerine göre, pyometra ve CEH'in farklı etiyopatogeneze sahip olduğu ve her iki patolojinin birbirinden bağımsız değerlendirilmesi gerektiğini öne sürülmüştür. Ancak çalışmamızda sağlıklı uterus (NK-5) ER boyanması hem CEH-P grupları hem de CEH-6'daki hastalara göre oldukça şiddetli bulundu ve yapılan araştırmalardan farklı bir sonuç elde edilmiştir. CEH'in temel patoloji olduğu tüm hastalarda, toplam 25 hastanın immunohistokimyasal boyamalarında, sağlıklı gruba göre yoğunluk ve boyanma oranı düşük bulunmuş ve bu farklılığın büyük oranda kistik bezler ve hiperplastik alanlardan kaynaklandığını ortaya konulmuştur. ER boyanmaları adı geçen bu bölgelerde orta, zayıf ve negatif boyanmalarla değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda dişi köpeklerde aglepristonun uterus reseptörleri üzerindeki değişiklikleri incelendi ve aglepriston tedavisi yapılan CEH-P-1 grubu hastalardan 1 tanesinde düşük yoğunluklu PR boyanması gözlemlendi. Diğer tüm aglepriston

uygulaması yapılan köpeklerde ve diöstrus hastalığı olarak bilinen pyometranın progostatif fazını yansıtacak CEH-P-4 ve NK-5 gruplarında bile PR boyanmasının gözlenmemesi oldukça dikkat çekicidir.

Çalışmamızda uterus doku örneklerinde progesteron (PGR) gen ekspresyonu, CEH-Pyometralı gruplarda en fazla CEH-P-4 grubunda bulundu ve istatistiksel fark olmamasına rağmen, sağlıklı diöstrus dönemi ve aglepriston uygulanan tüm CEH-P’li köpeklere göre (NK-5) daha yüksek ekspresyon seviyeleri elde edilmiştir. Gruplar içinde NK-5 ile CEH-P-4 ve CEH-6 arasındaki istatistiksel değerlendirmede, CEH-6 grubu her iki gruba göre yüksek PGR ekspresyonu bulundu. PGR gen ekspresyonunun yüksek olmasına rağmen protein düzeyinde reseptörlerin tespit edilememesi, post-transkripsiyonel hata olduğunu düşündürmektedir.

Bu tezatlık, progesteron reseptörünün iki farklı izoforma sahip olması, ve/veya alternatif uç birleştirme (alternative splicing) transkriptlerinin kodlanmamış reseptör varyantı olarak karşımıza çıkmasıyla ilişkili olabilir (Samalecos, & Gellersen, 2008; Skrzypczak ve ark., 2015; Fabris ve ark., 2017). Progesteron reseptörlerini kodlayan genler ekson-atlama (Exon-skipping) yada ekson-kopyalanmasına (exon-duplication) ile uç birleştirebilir (Skrzypczak ve ark., 2015). Progesteron reseptörünün belirlenen iki farklı izoformu; isoform A (PRA) ve izoform B (PRB) bir tek genden, farklı promotorların regülasyonu transkripte edilebilir. Bu durum alternatif uç birleştirme nedeni olup, ve her splice varyantın proteine dönüştürülemeyeceğini gösterir. Bu tip kodlama hatalarına ise en çok malign olgularda rastlanır. Köpek meme tümörlerinde, genden proteine geçiş kontrolünün kaybolması ile, immün boyanma ve gen kodlamaları arasında meydana gelen farklılıklarına sıklıkla rastlanmaktadır (Chang ve ark., 2009).

Bu sonuçlar herhangi bir bilimsel veriyle karşılaştırılmadı ancak CEH-6’da enfeksiyon gözlenmeyen hastalarda progesteron reseptör gen ekspresyonunun yüksek olması, patolojinin yine insan endometriyum kanserlerinde olduğu gibi steroid hormon etkisinde olabileceğini göstermektedir. CEH’de protein ve gen seviyelerindeki farklılıkların tespit edilmesi, endometriyumun bir sonraki aşamada daha şiddetli farklılaşmasına neden olabilecek öncü veriler sakladığını düşünmekteyiz.

### 5.1. Gruplar Arası Ekspresyonel Farklılıklar

Kronik inflamasyonun endometriyum kanseri dahil birçok malignitede rol oynadığı bildirilmektedir. Kanser ile inflamasyonun en önemli bağının prostaglandin mekanizmasının olduğu ve prostaglandin sentezi basamaklarında meydana gelen gen regülasyon farklılıklarının tümörleşme ve tümör gelişiminde önemli rol oynadığı açıklanmaktadır (Modugno ve ark., 2005). Epitel hücrelerinde PTGS2/COX2 ekspresyonunun; büyüme faktörleri, onkojen ve karsinojen stimülasyonu ile arttığı ve PGE2 ile birlikte neoplastik değişimlere neden olduğu ortaya konulmaktadır (Herschman, 1996; Subbaramaiah ve ark., 1996). PTGS2/COX2, inflamasyon ve kanser gibi birçok patolojik ve bazı fizyolojik olaylarda rolü olan önemli bir prostaglandin ve tromboksan A2 kaynağıdır (Silva, Leitão, Ferreira-Dias, Lopes da Costa, & Mateus, 2009; Sanguiliano, Pérez, Moreira, & Belizário, 2014). İnsanlarda olduğu gibi, küçük hayvan onkolojisinde de PTGS2/COX2'nin yüksek regülasyonunun belirlenmiş olması, bu patolojilerde prognostik ve diagnostik öneme sahip bir parametredir (Dore, 2011; Szweda, Rychlik, Babińska, & Pomianowski, 2019). Çalışma gruplarımızda enfekte uterusu sahip tüm köpeklerde (CEH-P-1-2-3-4) PTGS2/COX2 ekspresyonunun sağlıklı NK-5 grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunması, bu artışın enfeksiyona bağlı olarak geliştiğini düşündürmektedir ve bu alanda yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (Silva ve ark., 2010; Voorwald ve ark., 2015) Bu duruma ek olarak çalışmamıza dahil edilen CEH-P-4, NK-5 ve CEH-6 grupları arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede ise fark gözlenmiş ve enfeksiyonsuz CEH (CEH-6) olgularında da PTGS2/COX2 ekspresyonunun artışı önemli bulunmuştur. Köpeklerde endometriyum hastalıklarıyla ilişkili yapılan araştırmalarda; mukometra, endometritis ve pyometra gibi patolojilerde PTGS2/COX2 ekspresyonunun artışı belirlenmektedir (Garcia Mitacek ve ark., 2017; Silva ve ark., 2010; Veiga ve ark., 2017; Voorwald ve ark., 2015). Ancak enfeksiyonun eşlik etmediği CEH olgularında, PTGS2/ COX2 artışının değerlendirildiği başka bir çalışma bulunmadığından, tarafımızca belirlenen bu artış önem arz etmektedir.

PTGS2/COX2'nin PGE2 ile birlikte merkezi inflamasyon yolağında yer alarak, enfeksiyon olgularında her iki genin ekspresyonunun artışı ortaya konulmaktadır. Aynı zamanda birçok kanser tipinde, neoplastik transformasyon ve karsinogenezisle sonuçlanan, apoptozise direnç gösterme, proliferasyon hızı ve invazyon artışında

önemli rol aldıkları belirtilmektedir (Tsuji, & DuBois, 1995; Ye ve ark., 2020). Küçük hayvanlarda gözlenen birçok neoplazmada, PTGS2/COX2'nin PGE2 ile yakından ilişkili olduğu ve köpek hücre hatlarına COX-2 inhibitörü uygulanmasıyla PGE2 sentezinin bloke edildiği tespit edilmektedir (Dore, 2011). Hücrelerde PGE2 transformasyonunda PTGS2/COX2 ile birlikte çalışan PTGES (prostaglandin E-sentaz)'dır (Park, Pillinger, & Abramson, 2006). Çalışmamızda PTGES ekspresyonu CEH-P-1-2-3-4 içindeki tüm hastalarda kontrol grubuna (NK-5) göre yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda, CEH-P-4, NK-5 ve CEH-6 grupları arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede ise fark gözlenmiş ve bu fark CEH-6 grubunun yüksek ekspresyonel artışından kaynaklandığı görülmüştür. CEH-pyometra hastalarındaki PTGES gen transkripsiyon düzeyi, enfeksiyonla ilişkilendirilmiş olup, benzer araştırmalarla karşılaştırıldığında aynı sonuçlar elde edildiği saptanmıştır (Silva ve ark., 2009; Silva ve ark., 2010). Ancak enfeksiyon taşımayan CEH'li uterus örneklerindeki (CEH-6) PTGES regülasyon artışının (upregülasyonunun), PTGS2/COX2 ekspresyon artışından kaynaklandığı düşünülmektedir. CEH'li uterusların inflamasyonla ilişkilendirilemeyen ve her iki parametrenin birlikte yükselen ekspresyon grafiği muhtemelen farklı bir mekanizmayı kontrol etmekte olduğunu düşündürmektedir.

PGE2, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörü 2'nin (FGF2) ekspresyonunu uyararak, PGE2'nin tanımlanmış alt reseptörleri olan PTGER1, PTGER2, PTGER3 ve PTGER 4'e etki etmektedir (Ashby, 1998). Yapılan çalışmalarda kanser gelişiminde PTGER1, tümör hücresi göçüne, istilasına ve hücrelerin hipoksi ortamına uyum sağlamasına aracılık etmekte (O'Callaghan, & Houston 2015), PTGER2, anjiyogenezi indüklemekte ve anti-tümör immün tepkisini azaltmaktadır (O'Callaghan, & Houston 2015). Yüksek PTGER3 ekspresyonu ise endometriyal karsinomlarda genel sağkalım ile ilişkili parametre olduğu bildirilirken, Zhu ve ark (2018) PTGER4'ün endometriyal adenokarsinom dokularında PGE2'ye yanıt olarak artışının gözlemlendiği ortaya konulmaktadır (Jabbour ve ark., 2001). Kadınlarda görülen jinekolojik kanserlerde COX2-PGE2-EPs merkezi inflamatorik yolak olarak kabul edildiğinden, tanı, tedavi ve prognoz yönünden en önemli sinyalizasyon mekanizması haline geldiği ortaya konulmaktadır (Ye ve ark., 2020). Kadın endometriyal kanserlerinde, PTGER2, PTGER4 ve cAMP'nin yüksek

ekspresyonu, PGE2'ye cevap olarak belirlenmektedir. Bu cevap PGE2'nin Vasküler Endoteliyal Growth Faktörü (VEGF), EP2-cAMP ilişkili epidermal büyüme faktör transaktivasyonu ve hücre dışı sinyal-kontrollü kinaz 1/2 (ERK1/2) yollarını kullanarak stimule ettiği ortaya konulmaktadır (Jabbour ve ark., 2001; Sales ve ark., 2004). Yine PGE2'nin PTGER4 reseptörü aracılığıyla proliferasyon ve invazyonu artırdığı ve bunun için Wnt/ $\beta$ -katenin sinyalizasyon yolağını aktive ettiği açıkça belirtilmektedir (Ke ve ark., 2016). Çalışma gruplarımız içinde, CEH-P-1-2-3-4'ün PTGER2'yi yönünden sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak fark gözlenmemesine rağmen yüksek ekspresyon değerleri elde edilmiştir. Bu artışın muhtemelen enfeksiyona bağlı olduğu düşünülmektedir. Tedavi almamış CEH-pyometra grubunun (CEH-P-4), sağlıklı gruptan (NK-5) daha yüksek PTGER2 ekspresyon oranlarına sahip olması, enfeksiyonun muhtemelen prostaglandin mekanizmasını tetiklediğini göstermektedir. Enfeksiyonsuz CEH grubunda (CEH-6) sağlıklı gruba göre (NK-5) düşük ekspresyon oranlarının bulunması ise ilgi çekicidir. Aynı zamanda CEH-6 grubu hastalarında, PTGER4'ün hem sağlıklı kontrol (NK-5) hem de CEH-P-4 gruplarına göre istatistiksel olarak bir fark olmamasına rağmen daha yüksek seyretmesi, PGE2'nin beklenen yollardan farklı bir mekanizmayla PGE2 cevabını oluşturduğunu düşündürmektedir. PGE2'nin dört farklı alt reseptör tipinin farklı tümör tiplerinde, farklı kombinasyonlarda aktive edildiği ve farklı cevapların olduğu ortaya konulmaktadır. Jinekolojik kanserlerde COX-2-PGE2-EPs ilişkisi açıkça belirlenmiş olmasına rağmen, alt reseptör tiplerinin, hangi kombinasyonlara etkili olduğuna dair çalışmalar kısıtlıdır (Ye ve ark., 2020). Kolon kanserinde PTGER-1 ve PTGER 4'ün birlikte aktive olduğu verilerinin yanında, deri kanserlerinde PTGER-2'nin rol aldığı belirlenmektedir (Dore, 2011). Yapılan araştırmalarda endometriyal kanser olgularında, PTGS2 ve PTGES yüksek ekspresyonları belirlenirken, kolon kanserlerinde gözlenen PTGER4-cAMP yolağı aracılığıyla endometriyal tumorigenezise neden olabileceği savunulmaktadır. Bunun ötesinde PTGER2 ve PTGFR reseptörleri Gs ve Gq yollarını kullanarak cAMP sinyalizasyonunu arttırdığı bildirilse de benzer bir mekanizmanın PTGER4 aracılığıyla endometriyal tümör hücre büyümesine yol açacağı düşünülmektedir (Abera, Sales, Catalano, Katz, & Jabbour, 2010; Chell ve ark., 2006; Jabbour ve ark., 2001). Yukarıdaki literatürlerde görüldüğü üzere çeşitli kanser tiplerinde, PTGS2'ye ek olarak farklı alt reseptör tiplerinin bu

artışlarda rol aldığı görülmektedir. Sonuçlarımıza göre CEH-P-4, NK-5, CEH-6 arasında PTGS2/COX2 ve PTGES'nin enfeksiyonsuz CEH hastalarında (CEH-6) yüksek olması ve bu yüksekliğe sadece PTGER4'ün eşlik etmesi, CEH'nin mekanizmasında, muhtemelen farklı yollar kullandığını göstermektedir.

PGH2'nin  $PGF_{2\alpha}$ 'ya dönüştürülmesinde  $PGF_{2\alpha}$ -sentaz (PGFS) görev almaktadır. PGFS uterus dokusunun patolojik değişimlerinde önemli rol oynayan ve PTGS2/COX2 ile birlikte ekspresyonu artan bir enzimdir (Silva, ve ark., 2009; Silva ve ark., 2010). Ayrıca  $PGF_{2\alpha}$ , etkisini G-protein bağımlı bir reseptör (G- protein coupled receptor) olan PTGFR aracılığıyla meydana getirmektedir (Asselin, & Fortier 2000; Breyer, Bagdassarian, Myers, & Breyer, 2001; Madore ve ark., 2003). Çalışma gruplarımız içinde PGFS'in CEH-P-1-2-3-4'ün sağlıklı gruba (NK-5) göre yüksek ekspresyonlarda olması, bu artışın enfeksiyon kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, CEH-P-4, NK-5, CEH-6 arasında yeni bir karşılaştırma yapıldığında PGFS'in enfeksiyonsuz CEH (CEH-6) hastalarında kontrol grubuna yüksek ekspresyon değerleri bulunmuş olmasına rağmen istatistiksel olarak fark sunulmamakla birlikte bu artışa PTGFR'e eşlik etmektedir.

Gruplar içinde NK-5 kontrol grubu olarak değerlendirilip CEH-P-4 ve CEH-6 arasındaki istatistiksel değerlendirmede ise CEH-6 grubu her iki gruba göre yüksek PGR ekspresyonu bulunmuştur. Bu sonuçlar herhangi bir bilimsel veriyle karşılaştırılamamıştır ancak CEH-6'da enfeksiyon gözlenmeyen hastalarda progesteron reseptör gen ekspresyonunun yüksek olması, bu patolojinin insan endometriyum farklılaşmasında olduğu gibi, steroid hormon etkisinde olabileceğini göstermektedir.

Araştırma sonuçlarımızda CEH-P-4, NK-5, CEH-6 arasındaki değerlendirmede PTGS2/COX2, PTGES, PTGER4, PGFS ve PTGFR (FP) reseptörü ekspresyonları sadece enfeksiyonun dahil olduğu CEH- pyometra (CEH-P-1-2-3-4) hastalarında değil, enfeksiyonsuz CEH (CEH-6) olgularında da kontrol grubuna (NK-5) göre yüksek bulundu. En yüksek transkripsiyonel aktivitenin CEH-P-1-2-3-4 hastalarında olması enfeksiyona bağlı olduğu düşünülürken, CEH-6 hastalarında enfeksiyon olmaksızın yüksek ekspresyon verileri CEH'nin sıradan bir patolojik değişim olmayabileceğini göstermektedir. Bununla beraber jinekolojik



karsinogeneziste etkili merkezi inflamatorik yoldan (COX2-PGES-EPs) farklı olduğunu düşündüğümüz CEH-6 hastalarında, PTGS2/COX2, PGES, PTGER4, PGFS ve PTGFR (FP) yüksek ekspresyonel farklılıkları, muhtemelen bahsedilen bu yolağın kullanımıyla, patolojik değişimlere, belki de progresyon süresince, şiddetli endometriyal farklılaşmaya neden olabileceğini akla getirmektedir.

## **5.2. Aglepriston Tedavisinin Gruplar Arası Ekspresyonel Farklılıklar Üzerindeki etkisi**

CEH-pyometra'lı hastalarda aglepriston ile uygulanan tedavi protokolüne göre PTGS2/COX2 ekspresyonu değerlendirildi ve hiç tedavi almayan hastalarda en yüksek ekspresyon değeri belirlenirken, 2 ve 3. doz aglepriston uygulamalarından sonra PTGS2/COX2'nin ekspresyonunda azalma, 4. doz uygulanmasından sonra ise regülasyon artışı tespit edilmiştir. Bir progesteron blokör aracılığıyla yapılan pyometra tedavisinde PTGS2/COX2 ekspresyonuna ait başka bir çalışma bulunmadığından, tedavi süresince azalan ekspresyon verilerinin tamamen uterus içi enfeksiyon ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Köpeklerde luteolizisi, uterusu bağı olmayıp immun-ilişkili faktörlerce gerçekleşmektedir (Hoffmann, Büsges, Engel, Kowalewski, & Papa, 2004). Ancak gebe uterusun doğum süresince, öncelikli olarak myometrial kontraksiyonları kontrol etmek amacıyla, plasental orijinli prostaglandinlere ihtiyaç duymaktadır. Abort/doğum indüksiyon amaçlı aglepriston enjeksiyonları sonrasında ani artış gösteren PTGS2/COX2 ekspresyonu belirlenmesine rağmen, yangılı durumlarda bu enzimin azalış göstermesinin sebebi CEH-pyometra hastalığında, gebeliğin ve plasental prostaglandinlerin olmaması ve ekspresyonel değişimlerin tamamen uterustaki inflamatuvar süreçle ilgili olduğu sanılmaktadır (Kowalewski, Kautz, Högger, Hoffmann, & Boos, 2014).

En yüksek PTGES gen transkripsiyonu, aglepriston uygulaması yapılmayan CEH-P-4 grubu örneklerinden elde edilirken, tedavi süresince her bir enjeksiyondan sonra alınan doku örneklerinde dereceli azalma dikkati çekmektedir. Yapılan araştırmalarda pyometra tedavisi süresince, aglepristonun prostaglandin sisteminde nasıl değişiklik yaptığını ilişkin bilgi bulunmadığından, aglepristonla uyarılmış doğum/abort indüksiyon çalışmaları baz alınmıştır. Ancak yine doğum zamanında

ihtiyaç duyulan prostaglandinler, interplental uterus bölgesinden köken almakta ve PTGES'nin regülasyonunun artışının aglepriston uygulaması sonrasında gerçekleşmesi dikkati çekmektedir (Kowalewski ve ark., 2014). Pyometra tedavisi süresince aglepriston uygulamasına rağmen PTGES ekspresyonunun kademeli düşüşü yine uterus içeriğiyle ve enfeksiyon oranıyla doğrudan ilişkili olduğu sanılmaktadır.

Çalışmamızda PTGER2 ve PTGER4 ekspresyonu aglepriston tedavisi alan gruplar arasında değerlendirilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda CEH-pyometra hastalarında bu iki genin regülasyonuna ilişkin veri bulunmamaktadır. Ancak aglepristonun, doğum için kullanıldığı köpeklerde, PTGER2 ekspresyonunun yüksek, PTGER4 ekspresyonunun ise değişmeden kaldığı görülmektedir (Kowalewski ve ark., 2014). Çalışmamızda PTGER2'nin, aglepriston uygulaması yapılan CEH-1-2-3 gruplarında CEH-P-4 gruplarından daha yüksek ekspresyonlar elde edilerek, yine doğum mekanizmasındaki benzer sonuçları göstermesi, aglepristonun hem pyometra tedavisinde, hem de doğum indüksiyonunda benzer mekanizmayı stimüle ettiği düşünülmektedir. PTGER4 ekspresyonu ise aglepriston uygulanan CEH-1-2-3 gruplarında, CEH-P-4 grubuna göre daha düşük regülasyonlar tespit edilmiş ve bu durumun enfeksiyon oranlarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Dişi köpeklerde, proinflamatorik mediatörlerin kontrol edilmesinde etkili prostaglandin enzimleri, PTGS2/COX2 ve PTGES'e ek olarak, aynı doku spesifik terminal sentez olan PGFS'dir. Bu enzimlerin tümü endometriyumun fizyolojik ve patolojik değişimlerinde önemli rol oynamaktadır (Silva ve ark., 2009). Pyometra olgularında, endotoksin salınımının endometriyal PTGES ve PTGS2/COX2 ile birlikte PGFS ekspresyonunu da arttırdığı çalışmalarla ortaya konulmaktadır (Silva ve ark., 2009; Silva ve ark., 2010). Çalışmamızda da, aglepriston tedavisi görmeyen CEH-P-4 grubu hastalarından alınan örneklerde, sağlıklı gruba göre (NK-5) çok yüksek PGFS ekspresyonu tespit edilmiş ve sonuçlarımız yapılan araştırmalarla benzerlik göstermiştir. PGFS'nin, daha önceki çalışmalarda sadece pyometra olgularında değerlendirildiği, ancak PGFS'nin çeşitli tedavi protokollerine bağlı olan değişimlerinin ele alındığı çalışmalar ise bulunmamaktadır. Çalışmamızda 2 doz aglepriston uygulamasından sonra PGFS ve PTGFR ekspresyonunda azalma, 3 ve 4. doz uygulamalarından sonra ise kademeli olarak artış belirlenmiştir. Aglepriston uygulaması, endometriyumda mononükleer immün hücre infiltrasyonu aracılığıyla

akut inflamatuvar reaksiyona neden olmaktadır (Kacprzak ve ark., 2015). İnflamasyonda görev yapan nötrofiller ise prostaglandin E2 (PGE2) için önemli bir kaynaktır (Wright, Moots, Bucknall, & Edwards, 2010). Hayvan modellerinde, PGFS ekspresyonu, akut inflamasyon sırasında azalmakta, yalnızca çözülme fazında (homeostazise dönüş) yeniden yükselmektedir, bu da adı geçen enzimlerin inflamasyonun çözülmesindeki olası rollerini gösterir (Scher, & Pillinger, 2009). Bu açıklamaya bağlı olarak, çalışmamızda aglepriston enjeksiyonları ile tedavi yapılan gruplarda PGFS artışının muhtemel sebebi olduğunu düşünmekteyiz.

Aglepriston uygulamasının, pyometra olgularında klinik olarak olumlu sonuç verdiği açıktır. Uygulama sonrasında kısa sürede serviksin açılarak, uterus içeriğinin boşaltılmasında önemli etkileri olduğu görülmekte ve çalışmamız dâhil bir çok klinik araştırmada olumlu yönleriyle ortaya konmaktadır. Ancak 2, 3 ve 4 doz aglepriston uygulamasının, prostaglandin sentez enzimleri üzerindeki etkileri incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel fark olmamasına rağmen, prostaglandin sentez enzimlerinin ekspresyonlarında değişiklik meydana gelmektedir. Bu değişiklikler incelendiğinde en önemli akut etkinin, ilk 2 doz uygulamasından sonra meydana geldiği görülmektedir. Klinik verilerle paralel değerlendirildiğinde ise 24 saat aralıklı 2 doz uygulamasından sonra hastalarda serviks açıklığı, vaginal akıntı artışı, genel durumda iyileşme gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre 3. ve 4. dozun uygulanmasının uterusu gen bazında önemli değişikliklere neden olmadığı görülmektedir. Ancak gözlemlerimize göre, bazı hastalarda uterusun ultrasonografik verileri, içerik durumu ve genel durum değişikliğine ilişkin ek enjeksiyonlara ihtiyaç duyulabileceği düşünülmektedir. Bu durumda aglepriston uygulamasının uterus prostaglandin gen enzimleri üzerindeki regülasyon artırıcı etkisi en çok 2 doz, ileri vakalarda ise 3 doz uygulamasıyla sınırlı bırakılabileceği kanaatindeyiz.

Ayrıca tam tedavi almış (4 doz) köpeklerin OHE operasyonları son enjeksiyondan 1-3 gün sonra yapıldığında (ortalama 2 gün), özellikle *E. coli* pyometralarda, uterus içeriğinin temizlenmediği, müköz kıvamda koyu renkli uterusu yapışık içerikle karşılaşıldı. Köpeklerde uterusun enfeksiyon ve toksinlerine karşı ilk direnci, TLR 2 ve TLR 4 aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu reseptörler, prostaglandin sentezini uyararak, uterin defans mekanizmasını artırma yoluna gider. Daha sonrasında ise PGES ve PGFS lokal inflamatorik cevabı kontrol etme görevini

üstlenmektedirler (Silva ve ark., 2010). Bu bilgilerle hastaların genel durumlarının iyileşmesinden sonra, operasyon tercih edilmeyen hastalarda, enjeksiyon sayısını artırmak yerine, Toll-like reseptörler ve prostaglandin mekanizmasının çalışmasına, doğal immun yanıtın oluşmasına izin verilmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Köpek adenokarsinoması nadir gözlenen uterin neoplazmdır (Cave, Hine, Howie, Thompson, & Argyle, 2002). CEH-P ile aynı uterusda gözlenen adenokarsinoma vakası bildirilmiştir (Jankowski, Adkesson, Langan, Haskins, & Landolfi, 2012). Benzer çoklu patolojiye sahip kedi vakası da bulunmaktadır (Sapierzynski, Dolka, & Cywinska, 2009). Bu patolojinin çok nadiren gözlenmesinden dolayı, köpek ve kedilerde, CEH ve adenokarsinoma arasındaki ilişki, halen bilinmemektedir. Fakat kadınlarda, hafif ya da basit hiperplazilerin, gelecekte endometriyum kanserine dönüşme riski bilinmektedir.

Bu döneme kadar köpeklerde gözlenen CEH olguları, neoplazi olarak kabul edilmemiştir. Hem CEH hem de adenokarsinomun aynı uterusda görülmüş olması ancak moleküler düzeyde çalışmanın yapılmamış olması, hâlihazırda yeni soruları beraberinde getirmektedir. Prostaglandin gen ekspresyonunun yüksek seviyeleri, enfeksiyonsuz olgularda bile endometriyumun farklılaşmasında öncül bir patolojiyle ilişkilendirilebilir. CEH çoğunlukla pyometra ile birlikte tanı almakta ve OHE ile tedavisi sonuçlanmaktadır. Eğer bu olguların daha uzun süre takip edilebilmesi ya da köpekler bu patolojiyle daha uzun süre yaşayabiliyor olsalardı, bu sorunun cevabını almanın çok daha kolay olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak düşük ER skorları ve yüksek prostaglandin enzim ekspresyonlarının CEH olgularında belirlenmesi, endometriyumun şiddetli farklılaşmaya girmesinden önceki ilk önemli aşama olabileceği sonucuna varılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- Abera, A. B., Sales, K. J., Catalano, R. D., Katz, A. A., & Jabbour, H. N. (2010). EP2 receptor mediated cAMP release is augmented by PGF 2 alpha activation of the FP receptor via the calcium-calmodulin pathway. *Cellular Signalling*, 22(1), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2009.09.012>
- Aflatoonian R., Tuckerman E., Elliott S. L., Bruce C., Aflatoonian A., Li T. C., & Fazeli A. (2007). Menstrual cycle-dependent changes of Toll-like receptors in endometrium. *Human Reproduction*, 22 (2): 586-593. <https://doi.org/10.1093/humrep/del388>
- Agudelo C. F. (2005). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in cats. A review. *The Veterinary Quarterly*, 27(4), 173–182.
- Akcali, K. C., Khan, S. A., & Moulton, B. C. (1996). Effect of decidualization on the expression of bax and bcl-2 in the rat uterine endometrium. *Endocrinology*, 137(7), 3123–3131. <https://doi.org/10.1210/endo.137.7.8770938>
- Akihara, Y., Shimoyama, Y., Kawasako, K., Komine, M., Hirayama, K., Kagawa, Y.,... Tniyama, H. (2007). Immunohistochemical evaluation of canine ovarian cysts. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69,1033-7.
- Anderson, R.K., Gilmore, C.E., & Schnelle, G.B. (1965). Utero-ovarian disorders associated with use of medroxyprogesterone in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 146, 1311-1316.
- Angulo, S. M. (2009). Clinical aspects of uterine disease in the bitch and queen. *Proceedings of The Southern European Veterinary Conference*, Barcelona, Spain.
- Arnold. S., Reichler. I., & Hubler, M. (2006). Canine pyometra: new approaches to an old disease. In *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings*, (pp. 691-692).
- Arthur, G. H., Noakes, D. E., & Pearson, H. (1983). The estrous cycle and its control. In: *Veterinary Reproduction and Obstetrics, Theriogenology*. (s. 3-45). London: Ballière Tindall.
- Arthur, G. H., Noakes. D. E., & Pearson, H. (1996). *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (7. baskı) içinde (s. 527). London: W. B. Saunders.
- Ashby, B. (1998). Co-expression of prostaglandin receptors with opposite effects: a model for homeostatic control of autocrine and paracrine signaling. *Biochemical Pharmacology*, 55(3), 239–246. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(97\)00241-4](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(97)00241-4)
- Asselin, E., & Fortier, M. A. (2000). Detection and regulation of the messenger for a putative bovine endometrial 9-keto-prostaglandin E2 reductase: effect of oxytocin and interferon-tau1. *Biology of Reproduction*, 62(1), 125–131. <https://doi.org/10.1095/biolreprod62.1.125>
- Badawi, A. F. (2000). The role of prostaglandin synthesis in prostate cancer. *BJU International*, 85 (4): 451-462. <https://doi.org/10.1046/j.1464-410x.2000.00507.x>
- Baithalu, R. K., Maharana, B. R., Mishra, C., Sarangi, L., & Sama, L. (2010). Canine pyometra. *Veterinary World*, 3(7): 340-342.
- Baker, R. W. (1994). Use of tamoxifen in the control of canine mammary neoplasia. *The Veterinary Record*, 134(1), 24. <https://doi.org/10.1136/vr.134.1.24>
- Barr, F. (1990). *Diagnostic Ultrasound in the Dog and Cat* (pp. 78-95). Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- Barrau, M. D., Abel, Jr J.H., Verhage, H. G., & Tietz, Jr, W. J. (1975). Development of the endometrium during the estrous cycle in the bitch. *American Journal of Anatomy*, 142(1), 47-65. <https://doi.org/10.1002/aja.1001420105>
- Barton, C. (1992). Diseases of the uterus – cystic endometrial hyperplasia/ pyometra complex. In R. W. Morgan. (Ed). *Handbook of small animal practice* (pp. 655–658).
- Battersby, S., Sales, K. J, Williams, A. R., Anderson, R. A., Gardner, S., & Jabbour, H. N. (2007). Seminal plasma and prostaglandin E2 up-regulate fibroblast growth factor 2 expression in endometrial adenocarcinoma cells via E-series prostanoid-2 receptor-mediated transactivation of the epidermal growth factor receptor and extracellular signal-regulated kinase pathway. *Human Reproduction*, 22(1), 36–44. <https://doi.org/10.1093/humrep/del328>
- Berwick, M., Armstrong, B. K., Ben-Porat, L., Fine, J., Krickler, A., Eberle, C., & Barnhill, R. (2005). Sun exposure and mortality from melanoma. *Journal of The National Cancer Institute*, 97(3), 195-199. <https://doi.org/10.1093/jnci/dji019>
- Bhatti, S. F., Rao, N. A., Okkens, A. C., Mol, J. A., Duchateau, L., Ducatelle, R., ... Kooistra, H. S. (2007). Role of progesterin-induced mammary-derived growth hormone in the pathogenesis of cystic endometrial hyperplasia in the bitch. *Domestic Animal Endocrinology*, 33(3), 294–312. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2006.06.005>
- Bigliardi, E., Parmigiani, E., Cavirani, S., Luppi, A., Bonati, L., & Corradi, A. (2004). Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals Zuchthygiene*, 39(3),136–140. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00489.x>
- Bondade, S., Nema, S. P., & Shukla, S. P. (2010). Isolation of E.coli organisms from canine pyometra. *Indian Journal of Field Veterinarians*, 6(2), 63-65.
- Borresen, B. (1980). Pyometra in the dog-a pathophysiological investigation. IV. Functional derangement of extra-genital organs. *Nordisk veterinaermedicin*, 32(6), 255–268.
- Boryczko, Z., Bostedt, H., Jurka, P., Jurka, A., & Boryczko, A. (1994). The blood gas status in bitches with pyometra-endometritis complex. *Tierarztliche Praxis*, 22(2), 181–184.
- Bree, H. Van Schepper, J. & Capiiau, E. (1988). The significance of radiology in the diagnosis of pyometra (endometritis post oestrus) in dogs: an evaluation of the correlation between radiographic and laboratory findings in 131 cases. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 35(1-10), 200–206. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1988.tb00023.x>
- Breyer, R. M., Bagdassarian, C. K., Myers, S. A., & Breyer, M. D. (2001). Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41, 661–690. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.661>
- Bridges, D., & Saltiel, A. R. (2015). Phosphoinositides: Key modulators of energy metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851(6), 857–866. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.11.008>
- Briggs, M. H., & Briggs, M. (1973). Glucocorticoid properties of progestogens. *Steroids*, 22, 555. [https://doi.org/10.1016/0039-128X\(73\)90011-1](https://doi.org/10.1016/0039-128X(73)90011-1)
- Castle, P. E., Hillier, S. L., Rabe, L. K., Hildesheim, A., Herrero, R., Bratti, M. C., ... Schiffman, M. (2001). An association of cervical inflammation with high-grade cervical neoplasia in women infected with oncogenic human papillomavirus (HPV). *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 10(10), 1021–1027.

- Cave, T. A., Hine, R., Howie, F., Thompson, H., & Argyle, D. J. (2002). Uterine carcinoma in a 10-month-old golden retriever. *The Journal of Small Animal Practice*, 43(3), 133–135. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00044.x>
- Chandra, V., Kim, J. J., Benbrook, D. M., Dwivedi, A., & Rai, R. (2016). Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia. *Journal of Gynecologic oncology*, 27(1), e8. <https://doi.org/10.3802/jgo.2016.27.e8>
- Chang, B. Y., Kim, S. A., Malla, B., & Kim, S. Y. (2011). The effect of selective estrogen receptor modulators (SERMs) on the tamoxifen resistant breast cancer cells. *Toxicological Research*, 27(2), 85–93. <https://doi.org/10.5487/TR.2011.27.2.085>
- Chang, C. C., Tsai, M. H., Liao, J. W., Chan, J. P., Wong, M. L., & Chang, S. C. (2009). Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(4), 391–396. <https://doi.org/10.2460/javma.235.4.391>
- Chell, S. D., Witherden, I. R., Dobson, R. R., Moorghen, M., Herman, A. A., Qualtrough, D., Williams, A. C., & Paraskeva, C. (2006). Increased EP4 receptor expression in colorectal cancer progression promotes cell growth and anchorage independence. *Cancer Research*, 66(6), 3106–3113. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-3702>
- Chen, Y. M. M., Lee, C. S., & Wright, P. J. (2006). The roles of progesterone and uterine irritant in the maintenance of cystic endometrial hyperplasia in the canine uterus. *Theriogenology*, 66(6-7), 1537-1544. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.019>
- Chu, P. Y., Salamonsen, L. A., Lee, C. S., & Wright, P. J. (2002a). Matrix metalloproteinases (MMPs) in the endometrium of bitches. *Reproduction (Cambridge, England)*, 123(3), 467–477.
- Chu, P. Y., Wright, P. J., & Lee, C. S. (2002b). Apoptosis of endometrial cells in the bitch. *Reproduction, Fertility, and Development*, 14(5-6), 297–305. <https://doi.org/10.1071/rd01108>
- Clarke, C. L., & Sutherland, R. L. (1990). Progesterone regulation of cellular proliferation. *Endocrine Reviews*, 11(2), 266–301. <https://doi.org/10.1210/edrv-11-2-266>
- Cohick, W. S., & Clemmons, D. R. (1993). The insulin-like growth factors. *Annual Review of Physiology*, 55, 131–153. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.55.030193.001023>
- Coleman, R. A., Smith, W. L., & Narumiya, S. (1994). International union of pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacological Reviews*, 46(2), 205–229.
- Colombo, G., Baccani, D., Masi, I., Mattioli, M., Pannelli Straini, R., & Cairoli, F. (1982). Plasma progesterone and oestrogen levels and steroid dehydrogenase activity of corpora lutea in the bitch affected by pyometra. *La Clinica Veterinaria*, 105, 196–203.
- Concannon, P. W. (1986). Canine physiology of reproduction. In T. J. Burke. (Ed.), *Small animal reproduction and fertility. A clinical approach to diagnosis and treatment* (pp. 23-77).
- Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.028>
- Concannon, P., Altszuler, N., Hampshire, J., Butler, W. R., & Hansel, W. (1980). Growth hormone, prolactin, and cortisol in dogs developing mammary nodules and an

- acromegaly-like appearance during treatment with medroxyprogesterone acetate. *Endocrinology*, 106(4), 1173–1177. <https://doi.org/10.1210/endo-106-4-1173>
- Concannon, P. W., Hansel, W., & Visek, W. J. (1975). The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biology of Reproduction*, 13(1), 112–121. <https://doi.org/10.1095/biolreprod13.1.112>.
- Concannon, P. W., McCann, J. P., & Temple, M. (1989). Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 39, 3–25.
- Concannon, P., Tsutsui, T., & Shille, V. (2001). Embryo development, hormonal requirements and maternal responses during canine pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*, 57, 169–179.
- Concannon, P. W., Weigand, N., Wilson, S., & Hansel, W. (1979). Sexual behavior in ovariectomized bitches in response to estrogen and progesterone treatments. *Biology of Reproduction*, 20(4), 799–809. <https://doi.org/10.1095/biolreprod20.4.79>
- Contri, A., Gloria, A., Carluccio, A., Pantaleo, S., & Robbe, D. (2015). Effectiveness of a modified administration protocol for the medical treatment of canine pyometra. *Veterinary Research Communications*, 39(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s11259-014-9619-9>
- Dabhi, D. M., Dharni, A. J., Parikh, P. V., & Patil, D. B. (2009). Comparative evaluation of haematological parameters in healthy and pyometra affected bitches, *Indian Journal of Animal Reproduction*, 30, 70-72.
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., & Coryn, M. (2002a). Effects of progesterone treatment on the expression of oestrogen-a- and progesterone receptors in cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch. *Animal Reproductive Science*, 15;70(3-4): 251-9.
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Simoens, P., & Coryn, M. (2002b). Estrogen-alpha and progesterone receptor expression in cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch. *Animal Reproduction Science*, 70(3-4), 251–259. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(02\)00013-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(02)00013-1)
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., & Tshamala, M. (2002c). Is mechanically induced cystic endometrial hyperplasia (CEH) a suitable model for study of spontaneously occurring CEH in the uterus of the bitch?. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 37(3), 152–157. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2002.00358.x>
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Tshamala, M., & Coryn, M. (2003). The use of epostane in an attempt to reproduce cystic endometrial hyperplasia in the bitch. *Veterinary Research Communications*, 27(7), 527–538. <https://doi.org/10.1023/a:1026016312716>
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Van Den Broeck, W., & Coryn, M. (2001). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: should the two entities be disconnected?. *Theriogenology*, 55(7), 1509–1519. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(01\)00498-8](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00498-8)
- De Cock, H., Vermeirsch, H., Ducatelle, R., & De Schepper, J. (1997a). Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in cystic-endometritis-pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*, 48(6), 1035–1047. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(97\)00330-0](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00330-0)
- De Cock, H., Ducatelle, R., Logghe, J. P. (1997b). Immunohistochemical localization of estrogen receptor in the normal canine female genital tract. *Domestic Animal Endocrinology*, 14(3), 133–147.



- De Cock, H., Ducatelle, R., Tilmant, K., & De Schepper, J. (2002). Possible role for insulin-like growth factor-I in the pathogenesis of cystic endometrial hyperplasia pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*, 57(9), 2271–2287. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)00856-7](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00856-7)
- Dhaliwal, G. K., England, G. C., & Noakes, D. E. (1999). Oestrogen and progesterone receptors in the uterine wall of bitches with cystic endometrial hyperplasia/pyometra. *The Veterinary Record*, 145(16), 455–457. <https://doi.org/10.1136/vr.145.16.455>
- Dhaliwal G. K., England G. C., & Noakes D. E. (2002). The effects of endometrial scarification on uterine steroid receptors, bacterial flora and histological structure in the bitch. *Animal Reproductive Science*, 69 (3-4): 239-249. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(01\)00183-x](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(01)00183-x)
- Dhaliwal, G. K., Wray, C., & Noakes, D. E. (1998). Uterine bacterial flora and uterine lesions in bitches with cystic endometrial hyperplasia (pyometra). *The Veterinary Record*, 143(24), 659–661.
- Di Bisceglie, A. M. (2009). Hepatitis B and hepatocellular carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 49, 56–60. <https://doi.org/10.1002/hep.22962>
- Dinç, D. A. (1997). Karnivorlarda İnfertilite. In E. Alaçam. (Ed). *Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite*, (s.19-344).
- Dolka, I., Malicka, E., Motyl, T., Sapiernyński, R. (2010). IGF and other growth factors in canine and human mammary tumors – their role in carcinogenesis and prognostic significance. *Medycyna Weterynaryjna* 66, 745–750.
- Dore, M. (2011). Cyclooxygenase-2 expression in animal cancers. *Veterinary pathology*, 48(1), 254–265. <https://doi.org/10.1177/0300985810379434>
- Dow, C. (1957). The cystic hyperplasia–pyometra complex in the bitch. *The Veterinary Record*, 69, 1409–1415.
- Dow, C. (1958). The cystic endometrial hyperplasia–pyometra complex in the bitch. *The Veterinary Record*, 70, 1102–1108.
- Dow, C. (1959). The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 69, 237-250.
- Dow, C. (1960). Ovarian Abnormalities in the Bitch. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 70, 59–IN2.
- Dvorak, H. F. (1986). Tumor: Wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *The New England Journal of Medicine*, 315 (26): 1650-1659. <https://doi.org/10.1056/NEJM198612253152606>
- Eigenmann, J. E., & Rijnberk, A. (1981). Influence of medroxyprogesterone acetate (Provera) on plasma growth hormone levels and on carbohydrate metabolism. Studies in the bitch. *Acta Endocrinology, (Co- I. ovariectomized penh.)*. 98, 599-602.
- Fabris, V., Abascal, M. F., Giulianelli, S., May, M., Sequeira, G. R., Jacobsen, B., Lombès, M., Han, J., Tran, L., Molinolo, A., & Lanari, C. (2017). Isoform specificity of progesterone receptor antibodies. *The journal of pathology. Clinical Research*, 3(4), 227–233. <https://doi.org/10.1002/cjp2.83>
- Fayrer-Hosken, R. A., Mahaffey, M., Miller-Liebl, D., & Caudle, A. B. (1991). Early diagnosis of canine pyometra using ultrasonography. *Veterinary Radiology*, 32(6), 287–289. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.1991.tb00125.x>
- Fayrer-Hosken, R. A., Durham, D. H., & Allen, S. (1992). Follicular cystic ovaries and endometrial hyperplasia in a bitch. *The American Journal of Medicine*, 1;201(1), 107-8.

- Feldman, E., & Nelson, R. (1996). *Canine and feline endocrinology*, Philadelphia
- Feldman, E. C., & Nelson, R. W. (2004). Cystic endometrial hyperplasia/pyometra complex. In R. Kersey. (Ed.), *Canine and feline endocrinology and reproduction* (pp. 852–867) W.B Saunders.
- Feldman, E. C., & Nelson, R. W. (1987). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. (pp. 446-454) WB. Saunders Company, Philadelphia.
- Feldman, M., Ruan, W., Cunningham, B. C., Wells, J. A., & Kleinberg, D. L. (1993). Evidence that the growth hormone receptor mediates differentiation and development of the mammary gland. *Endocrinology*, 133(4), 1602–1608. <https://doi.org/10.1210/endo.133.4.8404600>
- Ferrer, M. D., Busquets-Cortés, C., Capó, X., Tejada, S., Tur, J. A., Pons, A., & Sureda, A. (2019). Cyclooxygenase-2 Inhibitors as a Therapeutic Target in Inflammatory Diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 26(18), 3225–3241. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180514112124>
- Fidler, I. J., Brodey, R. S., Howson, A. E., & Cohen, D. (1966). Relationship of estrous irregularity, pseudopregnancy, and pregnancy to canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 149(8), 1043–1046.
- Fieni, F., Martal, J., Marnet, P. G., Siliart, B., Bernard, F., Riou, M., ... Tainturier, D. (2001). Hormonal variation in bitches after early or mid-pregnancy termination with aglepristone (RU534). *Journal of Reproduction and Fertility*, 57, 243–248.
- Fieni, F., Topie, E., & Gogny, A. (2014). Medical treatment for pyometra in dogs. *Reproduction In Domestic Animals*, 49, 28–32. <https://doi.org/10.1111/rda.12302>
- Finetti, F., Travelli, C., Ercoli, J., Colombo, G., Buoso, E., & Trabalzini, L. (2020). Prostaglandin E2 and Cancer: Insight into tumor progression and immunity. *Biology*, 9(12), 434. <https://doi.org/10.3390/biology9120434>
- Flanders, K. C., & Burmester, J. K. (2003). Medical applications of transforming growth factor-beta. *Clinical Medicine & Research*, 1(1), 13–20. <https://doi.org/10.3121/cmr.1.1.13>
- Fransson, B. (2003a). *Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra: The Response to Bacterial Uterine Infection*. [Doctoral dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences]
- Fransson, B. A., Ragle, C. A. (2003b). Canine pyometra: an update on pathogenesis and treatment. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 25,602-612.
- Fraser, C. M. (1991). Reproductive System, "The Merck Veterinary manual" Merck & CO. In N. J. Rahway. (Ed). (pp. 679-681).
- Fukuda, S. (2001). Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. *Experimental Animals*, 50(4), 325–329. <https://doi.org/10.1538/expanim.50.325>
- Fulton, A. M., Ma, X., & Kundu, N. (2006). Targeting prostaglandin E EP receptors to inhibit metastasis. *Cancer Research*, 66(20), 9794–9797. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2067>
- Gama, A., Gärtner, F., Alves, A., & Schmitt, F. (2009). Immunohistochemical expression of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) in canine mammary tissues. *Research in Veterinary Science*, 87(3), 432–437. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.04.016>
- Garcea, G., Dennison, A. R., Steward, W. P., & Berry, D. P. (2005). Role of inflammation in pancreatic carcinogenesis and the implications for future therapy. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology*, 5(6), 514–529. <https://doi.org/10.1159/000087493>

- García Mitacek, M. C., Praderio, R. G., Stornelli, M. C., de la Sota, R. L., & Stornelli, M. A. (2017). Prostaglandin synthesis enzymes' gene transcription in bitches with endometritis. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(2), 298–302. <https://doi.org/10.1111/rda.12950>
- Gordon, M. D., & Ireland, K. (1994). Pathology of hyperplasia and carcinoma of the endometrium. *Seminars in Oncology*, 21(1), 64–70.
- Graham, J. D., & Clarke, C. L. (1997). Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocrine Reviews*, 18(4), 502–519. <https://doi.org/10.1210/edrv.18.4.0308>
- Greasley, P. J., & Jansen, F. P. (2005). G-protein-coupled receptor screening technologies. *Drug Discovery Today. Technologies*, 2(2), 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2005.05.009>
- Gultiken, N., Yarim, M., Yarim, G. F., Gacar, A., & Mason, J. I. (2016). Expression of 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in ovarian and uterine tissue during diestrus and open cervix cystic endometrial hyperplasia-pyometra in the bitch. *Theriogenology*, 86(2), 572–578. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.02.006>
- Gupta, A. K., & Dhama, A. J. (2013a). Haematological alterations in bitches affected with pyometra. *The Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 9(1), 1-5.
- Gupta, A. K., Dhama, A. J., Patil, D. B., Kumar, D., & Darr, M. (2013b). Clinical and ultrasonographic evaluation of Bitches affected with pyometra. *The Indian Journal of Field Veterinarians*, 8(3), 1-4.
- Hagman, R. (2004). *New aspects of canine pyometra: studies on epidemiology and pathogenesis*. [Doctoral dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala]
- Hagman, R., Reezigt, B. J., Bergström Ledin, H., & Karlstam, E. (2009). Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta veterinaria Scandinavica*, 51(1), 2. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-51-2>
- Hakuno, F., & Takahashi, S. I. (2018). IGF1 receptor signaling pathways. *Journal of molecular endocrinology*, 61(1), T69–T86. <https://doi.org/10.1530/JME-17-0311>
- Hardie, E. M. (1995). Life-threatening bacterial infection. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 17(6): 763- 778.
- Hardy, R. M., & Osborne, C. A. (1974). Canine Pyometra: pathophysiology, diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesions. *Journal of American Animal Hospital Association*, 10, 245-268.
- Harrenstien, L. A., Munson, L., Seal, U. S., & The American Zoo and Aquarium Association Mammary Cancer Study Group. (1996). Mammary Cancer in Captive Wild Felids and Risk Factors for Its Development: A Retrospective Study of the Clinical Behavior of 31 Cases. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 27(4), 468–476.
- Hauptman, J. G., Walshaw, R., & Olivier, N. B. (1997). Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Veterinary Surgery*, 26(5), 393–397. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950x.1997.tb01699.x>
- Herschman, H. R. (1996). Prostaglandin synthase 2. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1299(1), 125–140. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(95\)00194-8](https://doi.org/10.1016/0005-2760(95)00194-8)
- Hoffmann, B., Büsches, F., Engel, E., Kowalewski, M. P., & Papa, P. (2004). Regulation of corpus luteum-function in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals*, 39(4), 232–240. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00508.x>
- Hoffmann, B., & Schuler, G. (2000). Receptor blockers - general aspects with respect to their use in domestic animal reproduction. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 295–312. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00129-9](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00129-9)

- Howe, L. R. (2007). Inflammation and breast cancer. Cyclooxygenase/prostaglandin signaling and breast cancer. *Breast Cancer Research*, 9(4), 210. <https://doi.org/10.1186/bcr1678>
- Jabbour, H. N., Milne, S. A., Williams, A. R., Anderson, R. A., & Boddy, S. C. (2001). Expression of COX-2 and PGE synthase and synthesis of PGE(2) in endometrial adenocarcinoma: a possible autocrine/paracrine regulation of neoplastic cell function via EP2/EP4 receptors. *British Journal of Cancer*, 85(7), 1023–1031. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.2033>
- Jankowski, G., Adkesson, M. J., Langan, J. N., Haskins, S., & Landolfi, J. (2012). Cystic endometrial hyperplasia and pyometra in three captive African hunting dogs (*Lycan pictus*). *Journal of zoo and wildlife medicine : official publication of the American Association of Zoo Veterinarians*, 43(1), 95–100. <https://doi.org/10.1638/2010-0222.1>
- Jena, B., Rao, K. S., Reddy, K. C. S., & Raghavan, K. B. P. (2013). Comparative efficacy of various therapeutic protocols in the treatment of pyometra in bitches. *Veterinárni Medicína*, 58(5):271-6. <https://doi.org/10.17221/6809-VETMED>
- Jitpean, S., Ström-Holst, B., Emanuelson, U., Höglund, O. V., Pettersson, A., Alneryd-Bull, C., & Hagman, R. (2014). Outcome of pyometra in female dogs and predictors of peritonitis and prolonged postoperative hospitalization in surgically treated cases. *BMC Veterinary Research*, 10, 6. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-6>
- Johnston, S. D., Kustritz, M. V. R., & Olson, P. N. S. (2001). The canine estrous cycle. In S. D. Johnston. (Ed.). *Canine and feline theriogenology*, (pp. 16–31). WB Saunders Company.
- Kacprzak, K., Jurka, P., Dolka, I., Czopowicz, M., Ruszczak, A., & Duszewska, A. (2015). Changes in ovaries and uterus after aglepristone administration in the third week of luteal phase of non-pregnant bitches. *PloS one*, 10(3), e0121597. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121597>
- Kalkan, C., & Horoz, H. (2007). Pubertas ve seksüel sikluslar. In E. Alaçam. (Ed.). *Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite*. (s. 22-40). Ankara: Medisan Yayınları.
- Kanoh, K., Shimura, T., Tsutsumi, S., Suzuki, H., Kashiwabara, K., Nakajima, T., & Kuwano, H. (2001). Significance of contracted cholecystitis lesions as high risk for gallbladder carcinogenesis. *Cancer Letters*, 169(1), 7–14. [https://doi.org/10.1016/s0304-3835\(01\)00523-7](https://doi.org/10.1016/s0304-3835(01)00523-7)
- Kay, C. R., & Hannaford, P. C. (1988). Breast cancer and the pill--a further report from the Royal College of General Practitioners' oral contraception study. *British Journal of Cancer*, 58(5), 675–680. <https://doi.org/10.1038/bjc.1988.285>
- Ke, J., Yang, Y., Che, Q., Jiang, F., Wang, H., Chen, Z., ... Wan, X. (2016). Prostaglandin E2 (PGE2) promotes proliferation and invasion by enhancing SUMO-1 activity via EP4 receptor in endometrial cancer. *Tumor Biology*, 37(9), 12203–12211. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5087-x>
- Keller, K. (1909). Über den Bau des Endometriums beim Hunde mit besonderer Berücksichtigung der cyklischen Veränderungen an der Uterindrüsen. *Anatomische Hefte*, 118, 312-391.
- Kempisty, B., Bukowska, D., Wozna, M., Piotrowska, H., Jackowska, M., Zuraw, A., ... Nowicki, M. (2013). Endometritis and pyometra in bitches: a review. *Veterinárni Medicína*, 58(No. 6), 289–297. <https://doi.org/10.17221/6864-vetmed>
- Kennedy, P. C. (1993). The female genital system. In K. V. F. Jubb, P. C. Kennedy, & N. Palmer. (Eds.). *Pathology of domestic animals academic press* (pp 374-385).

- Key, T. J., & Pike, M. C. (1988). The dose-effect relationship between 'unopposed' oestrogens and endometrial mitotic rate: its central role in explaining and predicting endometrial cancer risk. *British Journal of Cancer*, 57(2), 205–212. <https://doi.org/10.1038/bjc.1988.44>
- Kida, K., Maezono, Y., Kawate, N., Inaba, T., Hatoya, S., & Tamada, H. (2010). Epidermal growth factor, transforming growth factor- $\alpha$ , and epidermal growth factor receptor expression and localization in the canine endometrium during the estrous cycle and in bitches with pyometra. *Theriogenology*, 73(1), 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.08.002>
- Kim, H. S., Kang, S. C., Zhang, H. S., & Kang, S. C. (2010). Uterine adenomyosis in beagle dogs. *Laboratory Animal Science*, 26(2), 211–213
- Kim, K. S., & Kim, O. (2005). Cystic endometrial hyperplasia and endometritis in a dog following prolonged treatment of medroxyprogesterone acetate. *Journal of Veterinary Science*, 6(1), 81–82.
- Kim, B. S., Kim, H. S., Kim, K. C., Park, C., Oh, K., & Son, C. (2008). Vaginal prolapse by ovarian follicular cysts in a female Jin-do dog. *Korean Journal of Veterinarian Research*, 48(2), 223, 225.
- Kim, H. S., Kim, T., Kim, M. K., Suh, D. H., Chung, H. H., & Song, Y. S. (2013). Cyclooxygenase-1 and -2: molecular targets for cervical neoplasia. *Journal of Cancer Prevention*, 18(2), 123–134. <https://doi.org/10.15430/JCP.2013.18.2.123>.
- Komatsu, N., Maekawa, T., Takeuchi, S., & Takahashi, S. (2003). Epidermal growth factor and transforming growth factor- $\alpha$  stimulate the proliferation of mouse uterine stromal cells. *Zoological Science*, 20, 639–645.
- Kowalewski, M. P., Kautz, E., Högger, E., Hoffmann, B., & Boos, A. (2014). Interplacental uterine expression of genes involved in prostaglandin synthesis during canine pregnancy and at induced prepartum luteolysis/abortion. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12, 46. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-46>
- Kumar, A., & Saxena, A. (2018). Canine Pyometra: Current Perspectives on Causes and Management – A Review. *The Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology*, 14 (1), 52-56.
- Kuper, H., Adami, H. O., & Trichopoulos, D. (2000). Infections as a major preventable cause of human cancer. *Journal of Internal Medicine*, 248(3):171–183. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.2000.00742.x>
- Lee, N. C., Rosero-Bixby, L., Oberle, M. W., Grimaldo, C., Whatley, A. S., & Rovira, E. Z. (1987). A case-control study of breast cancer and hormonal contraception in Costa Rica. *Journal of the National Cancer Institute*, 79(6), 1247–1254.
- Legler, D. F., Bruckner, M., Uetz-von Allmen, E., & Krause, P. (2010). Prostaglandin E2 at new glance: novel insights in functional diversity offer therapeutic chances. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42(2), 198–201. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.09.015>
- Lockwood, C. J., Krikun, G., Hausknecht, V. A., Papp, C., & Schatz, F. (1998). Matrix metalloproteinase and matrix metalloproteinase inhibitor expression in endometrial stromal cells during progestin-initiated decidualization and menstruation-related progestin withdrawal. *Endocrinology*, 139(11), 4607–4613. <https://doi.org/10.1210/endo.139.11.6304>
- Low, D. G. (1954). Pyometra in the bitch. *Veterinary Medicine, Small Animal Clinician* 49, 527-530.

- MacLachlan N. J. (1987). Ovarian disorders in domestic animals. *Environmental Health Perspectives*, 73, 27–33. <https://doi.org/10.1289/ehp.877327>
- Madore, E., Harvey, N., Parent, J., Chapdelaine, P., Arosh, J. A., & Fortier, M. A. (2003). An aldose reductase with 20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase activity is most likely the enzyme responsible for the production of prostaglandin f2 alpha in the bovine endometrium. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(13), 11205–11212. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208318200>
- Mant, J. W., & Vessey, M. P. (1994). Ovarian and endometrial cancers. *Cancer Surveys*, 19-20, 287–307.
- Marinkovic, D., Anicic, M., Vakanjac, S., Neced, S., & Magas, V. (2018). Morphological Characteristics and Expression of Estrogen and Progesterone Receptors in the Canine Endometrium During the Estrus Cycle, Cystic Endometrial Hyperplasia and Pyometra *Acta Veterinaria-Beograd*, 68 (3), 239-250.
- Martey, C. A., Pollock, S. J., Turner, C. K., O'Reilly, K. M., Baglole, C. J., Phipps, R. P., & Sime, P. J. (2004). Cigarette smoke induces cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E2 synthase in human lung fibroblasts: implications for lung inflammation and cancer. *American journal of physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 287(5), L981–L991. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00239.2003>
- Masferrer, J. L., Leahy, K. M., Koki, A. T., Zweifel, B. S., Settle, S. L., Woerner, B. M., Edwards, D. A., Flickinger, A. G., Moore, R. J., & Seibert, K. (2000). Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Research*, 60(5), 1306–1311.
- McCandlish, I. A. P., Munro, C. D., Breeze, R. G., & Nash, A. S. (1979). Hormone-producing ovarian tumours in the dog. *Veterinary Record*, 105, 9-11.
- McEntee, K. (1990). The uterus: atrophic, metaplastic, and proliferative lesions. In: *Reproductive Pathology of Domestic Mammals* (pp. 171–174).
- Meuten, D. J., (2003). *Tumors in Domestic Animals*. (pp. 176-179). USA, College of Veterinary Medicine North Carolina State University.
- Misdorp, W. (1991). Progestagens and mammary tumours in dogs and cats. *Acta endocrinologica*, 125 Suppl 1, 27–31.
- Modugno, F., Ness, R. B., Chen, C., & Weiss, N. S. (2005). Inflammation and endometrial cancer: a hypothesis. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 14(12), 2840–2847. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0493>
- Mohan, P., Subramanian, A., & Nambi, A. P. (2015). Haematological changes in open cervix pyometra following PGF2 $\alpha$  therapy in canines. *The Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology*, 11(1).
- Mol, J. A., Henzen-Logmans, S. C., Hageman, P., Misdorp, W., Blankenstein, M. A., & Rijnberk, A. (1995a). Expression of the gene encoding growth hormone in the human mammary gland. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 80(10), 3094–3096. <https://doi.org/10.1210/jcem.80.10.7559904>
- Mol, J. A., van Garderen, E., Selman, P. J., Wolfswinkel, J., Rijnberk, A., & Rutteman, G. R. (1995b). Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats. *The*

- Morris, J. S., Dobson, J. M., & Bostock, D. E. (1993). Use of tamoxifen in the control of canine mammary neoplasia. *The Veterinary Record*, 133(22), 539–542. <https://doi.org/10.1136/vr.133.22.539>
- Multhoff, G., Molls, M., & Radons, J. (2012). Chronic Inflammation in Cancer Development. *Frontiers in Immunology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2011.00098>
- Munson L., Gardner I. A., Masson R. J., Chassy L. M., & Seal U. S. (2002). Endometrial hyperplasia and mineralization in zoo felids treated with melengestrol acetate contraceptives. *Veterinary Pathology*, 39 (4): 419-427. <https://doi.org/10.1354/vp.39-4-419>
- Murphy, S. J., Anderson, L. A., Johnston, B. T., Fitzpatrick, D. A., Watson, P. R., Monaghan, P., & Murray, L. J. (2005). Have patients with esophagitis got an increased risk of adenocarcinoma? Results from a population-based study. *World Journal of Gastroenterology*, 11(46), 7290–7295. <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i46.7290>
- Myhre, A. S. (2016). *Canine Pyometra: the Efficiency of Medical Treatment of Pyometra - Integrated Studies of Veterinary Medicine*. [Master theses. Faculty of Veterinary Medicine Lithuanian University of Health Sciences Veterinary Academy]
- Narumiya, S., & FitzGerald, G. A. (2001). Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *The Journal of Clinical Investigation*, 108(1), 25–30. <https://doi.org/10.1172/JCI13455>
- Narumiya, S., Sugimoto, Y., & Ushikubi, F. (1999). Prostanoid Receptors: Structures, Properties, and Functions. *Physiological Reviews*, 79(4), 1193–1226. <https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.4.1193>
- Nath, K., Tiwari, S. K., & Kalim, O. (2009). Physiological and haematological changes in bitches with Pyometra. *The Indian Veterinary Journal*, 86, 734–736.
- Nelson, R. W., & Feldman, E. C. (1986). Pyometra in the bitch. In D. A. Morrow. (Ed.), *Current therapy in theriogenology 2*. (pp. 484-489) WB. Saunders, Philadelphia.
- Nielsen, S. W., Misdorp, W., & McEntee, K. (1976). Tumours of the ovary. *Bull World Health Organ*, 53,203–215.
- Niskanen, M., & Thrusfield, M. V. (1998). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *The Veterinary Record*, 143(18), 493–498. <https://doi.org/10.1136/vr.143.18.493>
- Noakes, D. E., Dhaliwal, G. K., & England, G. C. (2001). Cystic endometrial hyperplasia/pyometra in dogs: a review of the causes and pathogenesis. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 57, 395–406.
- Nolte, I., Volpert, A., & Brunckhorst, D. (1990). Entstehung, diagnose, therapie und komplikationen des endometritis-pyometra-komplexes bei der hündin. *Kleintierpraxis*, 35 (11), 589-602.
- Nomura, K. (1983). Canine pyometra with cystic endometrial hyperplasia experimentally induced by E. coli inoculation. *Nihon juigaku zasshi. The Japanese Journal of Veterinary Science*, 45(2), 237–240. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.45.237>
- Nomura, K., & Funahashi, H. (1999). Histological characteristics of canine deciduoma induced by intrauterine inoculation of E. coli suspension. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 61(4), 433–438. <https://doi.org/10.1292/jvms.61.433>
- O'Banion, M. K., Winn, V. D., & Young, D. A. (1992). cDNA cloning and functional activity of a glucocorticoid-regulated inflammatory cyclooxygenase. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(11), 4888–4892. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.11.4888>
- O'Callaghan, G., & Houston, A. (2015). Prostaglandin E2 and the EP receptors in malignancy: possible therapeutic targets?. *British Journal of Pharmacology*, 172(22), 5239–5250. <https://doi.org/10.1111/bph.13331>
- Offersen, B. V., Knap, M. M., Marcussen, N., Horsman, M. R., Hamilton-Dutoit, S., & Overgaard, J. (2002). Intense inflammation in bladder carcinoma is associated with angiogenesis and indicates good prognosis. *British Journal of Cancer*, 87(12), 1422–1430. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600615>
- Ohno, S., Ohno, Y., Suzuki, N., Inagawa, H., Kohchi, C., Soma, G., & Inoue, M. (2005). Multiple roles of cyclooxygenase-2 in endometrial cancer. *Anticancer Research*, 25(6A), 3679–3687.
- Okkens, A. C., & Kooistra, H. S. (2006). Anoestrus in the dog: a fascinating story. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 41(4), 291–296. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00702.x>
- Ortega-Pacheco, A., Gutiérrez-Blanco, E., & Jiménez-Coello, M. (2012). Common lesions in the female reproductive tract of dogs and cats. *The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice*, 42(3), 547–vii. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.01.011>
- Owen, L. N., & Briggs, M. H. (1976). Contraceptive steroid toxicology in the Beagle dog and its relevance to human carcinogenicity. *Current Medical Research and Opinion*, 4(5), 309–329. <https://doi.org/10.1185/03007997609109324>
- Özalp R, G., Şimşek, G., Akçağlar, S., & Shenavai, S. (2010). Trizol RNA Ekstraksiyon Metodu: İnek Plasentomu İçin Oldukça Etkili Metod Değerlendirmesi. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29 (1), 1-6.
- Park, J. Y., Pillinger, M. H., & Abramson, S. B. (2006). Prostaglandin E2 synthesis and secretion: the role of PGE2 synthases. *Clinical Immunology*, 119(3), 229–240. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2006.01.016>
- Parks, W. C. (1999). Matrix metalloproteinases in repair. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 7(6), 423–432. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475x.1999.00423.x>
- Patil, A., Swamy, M., Chandra, A., & Jawre, S. (2013). Clinico-haematological and serum biochemical alterations in pyometra affected bitches. *African Journal of Biotechnology*, 12, 1564- 1570.
- Patnaik, A. K., & Greenlee, P. G. (1987). Canine ovarian neoplasms: a clinicopathologic study of 71 cases, including histology of 12 granulosa cell tumors. *Veterinary Pathology*, 24(6), 509–514. <https://doi.org/10.1177/030098588702400607>
- Payan-Carreira, R., & Pires, M. A. (2016). Ovarian Cysts in Dogs' Practice. In L. V. Berhardt, & Nova Science Publishers (Eds.). *Advances in medicine and biology*, (pp.24).
- Peek Jr, R. M., & Crabtree, J. E. (2006). Helicobacter infection and gastric neoplasia. *The Journal of Pathology*, 208(2), 233–248. <https://doi.org/10.1002/path.1868>
- Pierce, K. L., Fujino, H., Srinivasan, D., & Regan, J. W. (1999). Activation of FP prostanoid receptor isoforms leads to Rho-mediated changes in cell morphology and in the cell cytoskeleton. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(50), 35944–35949. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.50.35944>
- Pike, M. C., Henderson, B. E., Casagrande, J. T., Rosario, I., & Gray, G. E. (1981). Oral contraceptive use and early abortion as risk factors for breast cancer in young women. *British Journal of Cancer*, 43(1), 72–76. <https://doi.org/10.1038/bjc.1981.10>



- Pinto, S., Gori, L., Gallo, O., Boccuzzi, S., Paniccia, R., & Abbate, R. (1993). Increased thromboxane A2 production at primary tumor site in metastasizing squamous cell carcinoma of the larynx. Prostaglandins, *Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 49(1), 527–530. [https://doi.org/10.1016/0952-3278\(93\)90042-u](https://doi.org/10.1016/0952-3278(93)90042-u)
- Pires, M. A., & Payan-Carreira, R. (2014). Cystic structures in the canine ovary: a prevalence survey. In: Schäfer-Somi SP, A.Niżański, W.Hagman, R.,(eds.), *17th EVSSAR Conference - Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats and Exotic Carnivores*. (pp. 179) Wrocław, Poland: EVSSAR
- Potter, K., Hancock, D. H., & Gallina, A. M. (1991). Clinical and pathologic features of endometrial hyperplasia, pyometra, and endometritis in cats: 79 cases (1980-1985). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198(8), 1427–1431.
- Predescu, D. V., Crețoiu, S. M., Crețoiu, D., Pavelescu, L. A., Suci, N., Radu, B. M., & Voinea, S. C. (2019). G Protein-Coupled Receptors (GPCRs)-Mediated calcium signaling in ovarian cancer: Focus on GPCRs activated by Neurotransmitters and Inflammation-Associated Molecules. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22), 5568. <https://doi.org/10.3390/ijms20225568>
- Pretzer, S. D. (2008a). Abnormalities canine estrous cycle: A review. *Canine breeder Symposium*. (pp. 41-49) St. Louis, Missouri.
- Pretzer, S. D. (2008b). Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: a review. *Theriogenology*, 70(3), 359–363. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.028>
- Rehm, S., Stanislaus, D. J., & Williams, A. M. (2007). Estrous cycle-dependent histology and review of sex steroid receptor expression in dog reproductive tissues and mammary gland and associated hormone levels. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 80(3), 233–245.
- Renton, J. P., Boyd, J. S., & Harvey, M. J. (1993). Observations on the treatment and diagnosis of open pyometra in the bitch (*Canis familiaris*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 47, 465–469.
- Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986–1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>
- Rigas, B., Goldman, I. S., & Levine, L. (1993). Altered eicosanoid levels in human colon cancer. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 122(5), 518–523.
- Rocca B., & FitzGerald, G. (2002). Cyclooxygenases and prostaglandins: shaping up the immune response. *International Immunopharmacology*, 2 (5): 603-630. [https://doi.org/10.1016/s1567-5769\(01\)00204-1](https://doi.org/10.1016/s1567-5769(01)00204-1)
- Rutteman, G. R. (1992). Contraceptive steroids and the mammary gland: is there a hazard?-- Insights from animal studies. *Breast Cancer Research and Treatment*, 23(1-2), 29–41. <https://doi.org/10.1007/BF01831473>
- Salamonsen, L. A., Butt, A. R., Hammond, F. R., Garcia, S., & Zhang, J. (1997). Production of endometrial matrix metalloproteinases, but not their tissue inhibitors, is modulated by progesterone withdrawal in an in vitro model for menstruation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82(5), 1409–1415. <https://doi.org/10.1210/jcem.82.5.3920>
- Sales, K. J., Maudsley, S., & Jabbour, H. N. (2004). Elevated prosta- glandin EP2 receptor in endometrial adenocarcinoma cells promotes vascular endothelial growth factor expression via cyclic 3',5'-adenosine monophosphate-mediated transactiva- tion of the epidermal growth factor receptor and extracellular signal-regulated kinase 1/2

- signaling pathways. *Molecular Endocrinology*, 18(6):1533–1545. <https://doi.org/10.1210/me.2004-0022>
- Sales, K. J., Maldonado-Pérez, D., Grant, V., Catalano, R. D., Wilson, M. R., Brown, P., Jabbour, H. N. (2009). Prostaglandin F2 $\alpha$ -F-prostanoid receptor regulates CXCL8 expression in endometrial adenocarcinoma cells via the calcium–calcineurin–NFAT pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1793(12), 1917–1928. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2009.09.018>
- Samalecos, A., & Gellersen, B. (2008). Systematic expression analysis and antibody screening do not support the existence of naturally occurring progesterone receptor (PR)-C, PR-M, or other truncated PR isoforms. *Endocrinology*, 149(11), 5872–5887. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0602>
- Samantha, G., Sarath, T., Monica, G., Arunmozhi, P., Sridevi J., & Cecilia J. (2018). Ultrasonographic and Haemato- biochemical Evaluation of Bitches Affected with Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Complex. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7, 2327-2338. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.706.278>
- Sandholm, M., Vasenius, H., & Kivistö, A. K. (1975). Pathogenesis of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 167(11), 1006–1010.
- Sangiuliano, B., Pérez, N. M., Moreira, D. F., & Belizário, J. E. (2014). Cell death-associated molecular-pattern molecules: inflammatory signaling and control. *Mediators of Inflammation*, 2014, 821043. <https://doi.org/10.1155/2014/821043>
- Sapierzynski, R. A., Dolka, I., & Cywinska, A. (2009). Multiple pathologies of the feline uterus: A case report. *Veterinarni Medicina*, 52 (7): 345-350. <https://doi.org/10.17221/101/2009-VETMED>
- Sasidharan, J. K., Patra, M. K., Singh, L. K., Saxena, A. C., De, U. K., Singh, V., ... & Krishnaswamy, N. (2021). Ovarian cysts in the bitch: An update. *Topics in companion animal medicine*, 43, 100511. <https://doi.org/10.1016/j.tcam.2021.100511>
- Schaefers-Okkens, A. C., & Kooistra, H. S. (1996). Voortplantingsproblematiek van de teef en de poes. *Het Diergeneeskundig Memorandum*, 43, 52.
- Scher, J. U., & Pillinger, M. H. (2009). The anti-inflammatory effects of prostaglandins. *Journal of Investigative Medicine: The Official Publication of the American Federation for Clinical Research*, 57(6), 703–708. <https://doi.org/10.2310/JIM.0b013e31819aaa7>
- Schlafer, D. H., & Gifford, A. T. (2008). Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-placentational endometrial hyperplasia, and other cystic conditions of the canine and feline uterus. *Theriogenology*, 70(3), 349–358. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.041>
- Schlafer, D., & Miller, R. (2007). Pathology of the ovary (non-developmental lesions). In M. G. M. (Ed.), *Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals* (pp.444-450).
- Schlesselman, J. J. (1997). Risk of endometrial cancer in relation to use of combined oral contraceptives. A practitioner's guide to meta-analysis. *Human Reproduction*, 12(9), 1851–1863. <https://doi.org/10.1093/humrep/12.9.1851>
- Seidman, J. D., Ashton, M. A., & Norris, H. J. (1997). *Endocrine aspects of the female reproductive tract*. In J. Lechago, V. E. Gould, Williams, & Wilkins (Eds.). (pp 273-281).

- Selman, P. J., Mol, J. A., Rutteman, G. R., & Rijnberk, A. (1994b). Progesterin treatment in the dog. I. Effects on growth hormone, insulin-like growth factor I and glucose homeostasis. *European Journal of Endocrinology*, *131*(4), 413–421. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1310413>
- Selman, P. J., Mol, J. A., Rutteman, G. R., Van Garderen, E., & Rijnberk, A. (1994a). Progesterin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland. *Endocrinology*, *134*(1), 287–292. <https://doi.org/10.1210/endo.134.1.7506206>
- Shah, S. A., Sood, N. K., Wani, B. M., Rather, M. A., Beigh, A. B., & Amin, U. (2017). Haemato- biochemical studies in canine pyometra. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *6*(4), 14-17.
- Shia, W. Y., Chu, P. C., Chou, C. C., & Lee, W. M. (2011). Investigation of the relationship between Endometrial MMP Activities and Sex Hormones in Mature Bitches *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, *41*(3), 289-297.
- Szweda, M., Rychlik, A., Babińska, I., & Pomianowski, A. (2019). Significance of cyclooxygenase-2 in oncogenesis. *Journal of Veterinary Research*, *63* (2): 215-224. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0030>
- Silva, E., Henriques, S., Brito, S., Ferreira-Dias, G., Lopes-da-Costa, L., & Mateus, L. (2012). Oestrous cycle-related changes in production of Toll-like receptors and prostaglandins in the canine endometrium. *Journal of Reproductive Immunology*, *96*(1-2), 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2012.07.003>
- Silva, E., Leitão, S., Henriques, S., Kowalewski, M. P., Hoffmann, B., Ferreira-Dias, G., da Costa, L. L., & Mateus, L. (2010). Gene transcription of TLR2, TLR4, LPS ligands and prostaglandin synthesis enzymes are up-regulated in canine uteri with cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex. *Journal of Reproductive Immunology*, *84*(1), 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.10.004>
- Silva, E., Leitão, S., Ferreira-Dias, G., Lopes da Costa, L., & Mateus, L. (2009). Prostaglandin synthesis genes are differentially transcribed in normal and pyometra endometria of bitches. *Reproduction in Domestic Animals*, *2*, 200–203. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01393.x>
- Simmen F. A. (1991). Expression of the insulin-like growth factor-I gene and its products: complex regulation by tissue specific and hormonal factors. *Domestic Animal Endocrinology*, *8*(2), 165–178. [https://doi.org/10.1016/0739-7240\(91\)90053-m](https://doi.org/10.1016/0739-7240(91)90053-m)
- Simmons, D. L., Botting, R. M., & Hla, T. (2004). Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews*, *56*(3), 387–437. <https://doi.org/10.1124/pr.56.3.3>
- Singh, S., Dadhich, H., & Sharma, G. D. (2006). Haemato-biochemical studies in cystic endometrial hyperplasia pyometra complex in canine, *Indian Journal of Veterinary Pathology*, *30*, 46-48.
- Skrzypczak, M., Merx, I., Schüler-Toprak, S., Weber, F., Inwald, E. C., Ortmann, O., & Treack, O. (2015). Molecular profiling of estrogen receptor  $\alpha$  and progesterone receptor transcript variants in endometrial cancer. *Steroids*, *104*, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.09.004>
- Smith, F. O. (2006). Canine pyometra. *Theriogenology*, *66*(3), 610–612. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.023>
- Snider, T. A., Sepoy, C., & Holyoak, G. R. (2011). Equine endometrial biopsy reviewed: observation, interpretation, and application of histopathologic data. *Theriogenology*, *75*(9), 1567–1581. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.12.013>

- Sokolowska, M., Chen, L. Y., Liu, Y., Martinez-Anton, A., Qi, H. Y., ... & Shelhamer, J. H. (2015). Prostaglandin E2 Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation through EP4 Receptor and Intracellular Cyclic AMP in Human Macrophages. *Journal of Immunology*, 94(11), 5472–5487. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401343>
- Stepień-Wyrobiec, O., Hrycek, A., & Wyrobiec, G. (2008). Transformujący czynnik wzrostu beta (TGF-beta)--budowa, mechanizmy oddziaływania oraz jego rola w patogenezie tocznia rumieniowatego układowego [Transforming growth factor beta (TGF-beta): its structure, function, and role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus]. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej (Online)*, 62, 688–693.
- Stöcklin-Gautschi, N. M., Guscetti, F., Reichler, I. M., Geissbühler, U., Braun, S. A., & Arnold, S. (2001). Identification of focal adenomyosis as a uterine lesion in two dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 42(8), 413–416. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2001.tb02492.x>
- Subbaramaiah, K., Telang, N., Ramonetti, J. T., Araki, R., DeVito, B., Weksler, B. B., & Dannenberg, A. J. (1996). Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. *Cancer Research*, 56(19), 4424–4429.
- Sugiura, K., Nishikawa, M., Ishiguro, K., Tajima, T., Inaba, M., Torii, R., ... Inaba, T. (2004). Effect of ovarian hormones on periodical changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. *Immunobiology*, 209(8), 619–627. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2004.09.003>
- Szewczuk, W., Szewczuk, O., Czajkowski, K., Grala, B., & Semczuk, A. (2020). Ovarian adult-type granulosa cell tumor concomitant with simple endometrial hyperplasia: a case study with selected immunohistochemistry. *The Journal of International Medical Research*, 48(4), 300060519886984. <https://doi.org/10.1177/0300060519886984>
- Tavares W. L., Lavalle G. E., Figueiredo M. S., Souza A. G., Bertagnolli A. C., Viana, F. A., ... Cassali G. D. (2010). Evaluation of adverse effects in tamoxifen exposed healthy female dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1), 67. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-67>
- Tong, D., Liu, Q., Wang, L. A., Xie, Q., Pang, J., Huang, Y., ... Jiang, J. (2018). The roles of the COX2/PGE2/EP axis in therapeutic resistance. *Cancer Metastasis Reviews*, 37(2-3), 355–368. <https://doi.org/10.1007/s10555-018-9752-y>
- Trasch, K., Wehrend, A., & Bostedt, H. (2003). Follow-up examinations of bitches after conservative treatment of pyometra with the antigestagen aglepristone. *Journal of veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 50(7), 375–379. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2003.00557.x>
- Tsuji, M., & DuBois, R. N. (1995). Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell*, 83(3), 493–501. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90127-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90127-2)
- Ushikubi, F., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., & Narumiya, S. (2000). Roles of prostanoids revealed from studies using mice lacking specific prostanoid receptors. *Japanese Journal of Pharmacology*, 83(4), 279–285. <https://doi.org/10.1254/jjp.83.279>
- Vagefi, P. A., & Longo, W. E. (2005). Colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease. *Clinical Colorectal Cancer*, 4(5), 313–319. <https://doi.org/10.3816/cc.2005.n.003>
- Van Cruchten, S. (2004). *Remodeling of the canine endometrium during the estrous cycle*. Thesis to obtain the academic degree of Doctor of Veterinary Science (PhD) Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Department of Morphology Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University

- Van Cruchten, S., Van den Broeck, W., Duchateau, L., & Simoens, P. (2003). Apoptosis in the canine endometrium during the estrous cycle. *Theriogenology*, 60(9), 1595–1608. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(03\)00178-x](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(03)00178-x)
- Van Leeuwen, F. E. (1991). Epidemiologic aspects of exogenous progestagens in relation to their role in pathogenesis of human breast cancer. *Acta Endocrinologica*, 125 Suppl 1, 13–26.
- Veiga, G. A., Miziara, R. H., Angrimani, D. S., Papa, P. C., Cogliati, B., & Vannucchi, C. I. (2017). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra syndrome in bitches: identification of hemodynamic, inflammatory, and cell proliferation changes. *Biology of Reproduction*, 96(1), 58–69. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.140780>
- Vermeirsch, H. (2001). *Immunohistochemical determination of receptors for sex steroid hormones in the genital tract of the female dog*. [Doctoral dissertation, Ghent University]
- Vermeirsch, H., Simoens, P., Hellemans, A., Coryn, M., & Lauwers, H. (2000a). Immunohistochemical detection of progesterone receptors in the canine uterus and their relation to sex steroid hormone levels. *Theriogenology*, 53(3), 773–788. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00273-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00273-3)
- Vermeirsch, H., Simoens, P., & Lauwers, H. (2000b). Immunohistochemical detection of the estrogen receptor-alpha and progesterone receptor in the canine pregnant uterus and placental labyrinth. *The Anatomical Record*, 260(1), 42–50. [https://doi.org/10.1002/1097-0185\(20000901\)260:1<42::AID-AR50>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1097-0185(20000901)260:1<42::AID-AR50>3.0.CO;2-8)
- Vermeirsch, H., Simoens, P., Lauwers, H., Coryn, M. (1999). Immunohistochemical detection of estrogen receptors in the canine uterus and their relation to sex steroid hormone levels. *Theriogenology*, 51: 729-743.
- Verstegen, J., Dhaliwal, G., & Verstegen-Onclin, K. (2008). Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology*, 70, 364–374.
- Ververidis, H. N., Boscós, C. M., Stefanakis, A., Saratsis, P., Stamou, A. I., & Krambovitis, E. (2004). Serum estradiol-17 beta, progesterone and respective uterine cytosol receptor concentrations in bitches with spontaneous pyometra. *Theriogenology*, 62(3-4), 614–623. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.11.011>
- Vesanen, M., Isomaa, V., Alanko, M., & Vihko, R. (1991). Bovine uterine, cervical and ovarian estrogen and progesterone receptor concentrations. *Animal Reproduction Science*, 26(1-2), 61–71. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(91\)90066-9](https://doi.org/10.1016/0378-4320(91)90066-9)
- Voges, A. K., & Neuwirth, L. (1996). Ultrasound diagnosis-cystic uterine hyperplasia. *Veterinary Radiology Ultrasound*, 37, 131-132.
- Voorwald, F. A., Marchi, F. A., Villacis, R. A., Alves, C. E., Toniollo, G. H., Amorim RL, ... Rogatto S. R. (2015). Molecular expression profile reveals potential biomarkers and therapeutic targets in canine endometrial lesions. *Plos One* 2015; 29:1–17.
- Wehrend., K., Trasch, K., & Bostedt, H. (2003). Treatment of the closed type of pyometra by the antigestagen, aglepristone in bitch. *Kleintierpraxis*, 48: 679-683.
- Weiderpass, E., Adami, H. O., Baron, J. A., Magnusson, C., Bergström, R., Lindgren, A., ... & Persson, I. (1999). Risk of endometrial cancer following estrogen replacement with and without progestins. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(13), 1131–1137.
- Wettschureck, N., & Offermanns, S. (2005). Mammalian G proteins and their cell type specific functions. *Physiological Reviews*, 85(4), 1159–1204. <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2005>

- Wheaton, L. G., Johnson, A. L., Parker, A. J., & Kneller, S. (1989). Results and complications of surgical treatment of pyometra: a review of 80 cases. *The Journal of the American Animal Hospital Association (USA)*, 25(5), 563-568.
- Wiebe, V. J., & Howard, J. P. (2009). Pharmacologic advances in canine and feline reproduction. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24(2), 71–99. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.12.004>
- Williams, C. S., & DuBois, R.N. (1996). Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms? *American Physiological Society*, 270(3 Pt 1):G393–400. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1996.270.3.G393>.
- Woźna-Wysocka, M., Rybska, M., Błaszak, B., Jaśkowski, B. M., Kulus, M., & Jaśkowski, J. M. (2021). Morphological changes in bitches endometrium affected by cystic endometrial hyperplasia - pyometra complex - the value of histopathological examination. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 174. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02875-0>
- Wright, H. L., Moots, R. J., Bucknall, R. C., & Edwards, S. W. (2010). Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases. *Rheumatology (Oxford, England)*, 49(9), 1618–1631. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq045>
- Yang, V. W., Shields, J. M., Hamilton, S. R., Spannhake, E. W., Hubbard, W. C., Hyland, L. M., ... & Giardiello, F. M. (1998). Size-dependent increase in prostanoid levels in adenomas of patients with familial adenomatous polyposis. *Cancer Research*, 58(8), 1750–1753.
- Ye, Y., Wang, X., Jeschke, U., & von Schönfeldt, V. (2020). COX-2-PGE2-EPs in gynecological cancers. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 301(6), 1365-1375. <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05559-6>
- Younis, M., Mohammed, F., Abu- Seida, A., Ragab, R. S., & Gohar, H. M. (2014). Ultrasonography and Pathological Evaluation of Cystic Endometrial Hyperplasia Pyometra Complex in Bitches and Queens with Related Ovarian Alterations, *Global Veterinaria*, 13(1), 60-67. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2014.13.01.84160>
- Zanghi, A., Catone, G., Marino, G., Quartuccio, M., & Nicòtina, P. A. (2007). Endometrial polypoid adenomyomatosis in a bitch with ovarian granulosa cell tumour and pyometra. *Journal of Comparative Pathology*, 136(1), 83–86. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2006.11.004>
- Zanghi, A., & Gimbo, A. (1998). Squamous metaplasia of the endometrium associated with a granulosa cell tumour in a bitch. *European Journal of Veterinary Pathology*, 4, 89-91.
- Zhu, J. (2019). *The expression of prostaglandin E receptors and their roles in healthy and diseased endometrium*. PhD Thesis, Ludwig-Maximilians- Universiy, Institute of Health Science.
- Zhu, J., Mayr, D., Kuhn, C., Mahner, S., Jeschke, U., & von Schönfeldt, V. (2018). Prostaglandin E2 receptor EP1 in healthy and diseased human endometrium. *Histochemistry and Cell Biology*, 149(2), 153–160. <https://doi.org/10.1007/s00418-017-1616-y>

## 7. SİMGELER VE KISALTMALAR

CEH:	Kistik endometriyal hiperplazi
OHE:	Ovariohisterektomi
CEH-P:	Kistik endometriyal hiperplazi-pyometra
COX2-PTGS2:	Siklooksijenaz 2/ prostaglandin-endoperoxide synthase 2
PGE2:	Prostaglandin E2
COX-1:	Siklooksijenaz 1
COX-2:	Siklooksijenaz 2
EP1/PTGER1:	Prostaglandin EP21reseptör
EP2/PTGER2:	Prostaglandin EP2 reseptör
EP3/PTGER3:	Prostaglandin EP3 reseptör
EP4/PTGER4:	Prostaglandin EP4 reseptör
COX-2-PGE2-EPs:	Siklooksijenaz 2-Prostaglandin EP reseptörleri merkezi inflamatorik yolak
Östradiol-17β:	Östradiol 17 beta
MMPs:	Matriks metaloproteinazlar
H & E:	Hematoksilen Eosin
ER:	Östrojen reseptör
PR:	Progesteron reseptör
IGF-I:	İnsulin benzeri büyüme hormonu I
IGF-IR:	İnsulin benzeri büyüme hormonu reseptörü
PI-3K/Akt:	Fosfatidilinositol-3-kinaz/ Protein kinaz B
Ras/MAPK:	RAS onkogen işkili mitojen aktif protein kinaz
TGF-β:	Transforming büyüme faktörü beta
EGF:	Epidermal büyüme faktörü
EGF-R:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
TGFα:	Transforming büyüme aktörü alfa
MPA:	Medroksiprogesteron asetat
GH:	Büyüme hormonu
SERMs:	Selektif östrojen reseptör modülatörü
PLA2:	Fosfolipaz A2
PGH2:	Prostaglandin H2
PGF2α:	Prostaglandin F2 alfa
DP1:	PGD reseptörü
FP:	PGF reseptörü
IP:	PGI reseptörü
TP:	TX reseptör
Ca <sup>2+</sup> :	Kalsiyum
Gq:	G protein-alfa-q
AC:	Adenilil siklaz
Gs:	G protein-alfa stimülatörü
Gi:	G protein alfa inhibitörü

Rho:	G proteini
15-PGDH:	15-hidroksiprostaglandin dehidrojenaz
cAMP:	Siklik adenzin monofosfatı
GDP:	Guanozin difosfat
GTP:	Guanozin-5'-trifosfat
IP3/DAG/Ca <sup>2+</sup> :	Inositol trifosfat/Diaçilgliserol/Kalsiyum
PGD <sub>2</sub> :	Prostaglandin D <sub>2</sub>
PGI <sub>2</sub> :	Prostasiklin
TxA <sub>2</sub> :	Tromboksan A <sub>2</sub>
PLC $\beta$ :	Fosfolipaz C beta
SES kisti:	Yüzeyaltı epitelyal tümörler
GnRH:	Gonadotropin salgılayıcı hormon
hCG:	İnsan koryonik gonadotropin hormon
GCT:	Granulosa hücre tümörlerinin
BUN:	Kan üre nitrojen
ALT:	Alanin amino transferaz
AST:	Aspartat amino transferaz
ALP:	Alkalen fosfataz
CL:	Korpus luteum
VEGF:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
1XPBS:	Fosfat tamponu
RNA:	Ribonükleik asit
HS solüsyon:	Yıkama solüsyonu
LS solüsyon:	Yıkama solüsyonu
qPCR:	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
1XTAE:	Tris-asetat-EDTA solüsyonu
DNA:	Deoksiribonükleik asit
cDNA:	Komplementer DNA
dNTP:	dATP, dGTP, dCTP ve dTTP solüsyondur
GAPDH:	Gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz
ACT- $\beta$ :	Beta aktin
PTGS <sub>2</sub> :	prostaglandin-endoperoxide synthase 2
PTGES:	Prostaglandin E sentaz
PGFS:	Prostaglandin F sentaz
PTGFR:	Prostaglandin F reseptör
PGR:	Progesteron reseptör
ER $\alpha$ :	Östrojen reseptör alfa
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	Hidrojen peroksit
DAB:	3,3'diaminobenzidine
NaCl:	Sodyum klorür
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O:	Disodyum hidrojen fosfat dihidrat
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> :	Potasyum fosfat
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O:	Sodyum fosfat monobazik monohidrat
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> :	Disodyum fosfat
WBC:	Beyaz kan hücreleri
LYM:	Lenfosit
MON:	Monosit
NEU:	Nötrofil



EOS: Eozinofil  
BAS: Bazofil  
RBC: Kırmızı Kan Hücreleri  
HGB: Hemoglobin  
HCT: Hematokrit  
MCV: Ortalama hücresel hacim  
MCH: Ortalama eritrosit hemoglobini  
MCHC: Korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu  
RDWc: Eritrosit dağılım genişliği  
PLT: Platelet  
PCT: Trombositokrit  
MPV: Ortalama trombosit hacmi  
PDWc: Platelet dağılım genişliği  
ml: Mililitre  
g: Gram  
µl: Mikrolitre

## 8. EKLER

Etik Kurul Kararları

EK1

**T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
Görükle Yerleşkesi, 16060 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE  
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI**

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN ADI	<i>Kistik endometrial hiperplazi köpeklerin endometriyum kanseri midir?</i>
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ	Prof. Dr. R. Gözde ÖZALP
	KURUMU	BUÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Doktora Öğrencisi Yeşim KORLU
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Yeşim KORLU'nun Doktora Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	01.01.2020 – 01.01.2022
KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	20 Adet Dişi Köpek	

<b>DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>	<b>Tarihi</b>
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	04.10.2019

<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	<b>Karar No : 2019 - 09 / 01</b>	<b>Tarih : 15.10.2019</b>
	<p>Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya istilmesine oy birliğiyle çoğunluğu ile karar verildi.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Projede herhangi bir değişiklik gereğinde kurulumuzdan onay alınması,</li> <li>2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmalarda değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması,</li> <li>3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi,</li> <li>4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması,</li> <li>5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.</li> </ol>	

**ETİK KURUL BİLGİLERİ**

**ÜYELER**

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza		Düşünceler
				Kabul	Ret	
Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY Başkan	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Erdoğan ŞENDEMİR Üye	Tıp- Anatomi	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Dr. Öğr. Üyesi Sezer ERER KAYA Üye	Tıp - Tıp Tarihi ve Etik	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Murat YALÇIN Üye	Veteriner-Fizyoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Doç. Dr. Özgür ÖZYİĞİT Üye	Veteriner-Patoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Aydın İPEK Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	<input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKILIÇ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Asiye İşil SEZER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Diş Hekimi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Filiz KUNLAR Üye	Sivil Üye	Emekli	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Faruk KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEH-YUAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			

T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

Sayı: B.30.2.ULU.0.8Z.00.00 / 119  
Konu: Dilekçeniz

08.09.2020

**Prof. Dr. R. Gözde ÖZALP**

İLGİ: 10.08.2020 Tarihli Dilekçeniz

Dilekçeniz Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 08.09.2020 tarihli toplantısında görüşülmüştür. "*Kistik Endometrial Hiperplazi Köpeklerin Endometrium Kanseri midir?*" başlıklı araştırma projesinin kontrol grubu için 5 adet sağlıklı köpek uterus örneği olarak Yıldırım Belediyesinin rutin OHE operasyonunda alınan organların kullanılması talebinizin uygun olduğuna karar verilmiştir.

**Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY**  
HADYEK Başkanı

## 9. TEŞEKKÜR

Hayatımın her alanında olduğu gibi doktora eğitimim ve çalışmalarım boyunca değerli tecrübeleri ve engin bilgileri ile bana yol gösteren, her zaman ve her koşulda yanımda var olan, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım danışman hocam Prof. Dr. R. Gözde ÖZALP'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora programına başlamam ile birlikte hayatıma giren, yol gösterici ve olumlu tavrıyla beni her zaman cesaretlendiren Seyide ÖZALP'e şükranlarımı sunar ve teşekkür ederim.

Akademik olarak gelişmemde katkılar sağlayan ve yoluma ışık tutan hocalarım Prof. Ahmet GÜMEN, Prof. Yavuz NAK, Prof. Dr. Deniz NAK, Prof. Dr. Abdülkadir KESKİN ve Prof. Dr. Gülnaz MECİTOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışması boyunca hastaların değerlendirilmesinden laboratuvar sürecinin tamamlanmasına kadar geçen süreçte hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Özgür ÖZYİĞİT, Doç. Dr. Hüseyin CİHAN, Dr. Özkan YAVAŞ, Berkay BOZKURT, doktora öğrencisi Özge BARİ ve doktora öğrencisi Ahmet AKTAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışması boyunca materyal toplama konusunda bize her zaman destek veren Yıldırım Belediyesi Veteriner İşleri Müdürü Mehmet ALTUNTAŞ ve Veteriner Hekimi Aslı KARGI'ya , Pet Bursa Veteriner Kliniği Veteriner Hekimlerinden Gül ARSLAN, Özge İLKOVA YILDIZ ve Selin ÇAVUŞOĞLU'na, Fiona Hayvan Hastanesi Veteriner Hekimi Samet AYDIN ve ekibine çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca koşulsuz sevgi ve şevkatle yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen canım ailem Gülsen KORLU, Ceren KORLU ÖZGÜN, Veysel ÖZGÜN'e ve özellikle beni her zaman destekleyen bu yolda ilerlemem konusunda beni şevklendiren canım babam Basri KORLU'ya gönülden teşekkür ederim. Tüm neşesiyle beni her zaman motive eden bitanecik yeğenim Civanmert ÖZGÜN'e kucak dolusu sevgilerimi iletiyorum.

Her zaman yanımda olan dostlarım Dr. Havva Kurnaz, doktora öğrencisi Dila DAYI, doktora öğrencisi Nevda GÜREL, veteriner hekimi Burtan TÜTÜNCÜ ve veteriner hekimi Emre Cem ERÇİN'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmasının gerçekleştirilebilmesi için akademik ve maddi destek sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) Birimi'ne (Proje No: DDP(V)-2020/8) teşekkürü bir borç bilirim.

## 10. ÖZGEÇMİŞ

Lise öğrenimini 2011 yılında Antalya Lisesinde tamamlamıştır. Aynı yıl Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinde üniversite eğitimine başlamış ve 2017 yılında mezun olarak Veteriner Hekim ünvanını almaya hak kazanmıştır. Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında 2017 yılı güz döneminde doktora programına başlamış ve YÖK 100/2000 Moleküler Onkoloji bursiyeri olarak görev almıştır. Doktora eğitimini sürecinde çeşitli araştırmalarda yer almış ve uluslararası indekslerde taranan dergilerde yer alan makaleleri bulunmaktadır.